

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Pediatría



TESIS DOCTORAL

Aspectos clínicos, bioquímicos y genéticos de pacientes con hiperplasia suprarrenal congénita por déficit de 21 hidroxilasa detectados mediante programa de cribado neonatal de la Comunidad Autónoma de Madrid

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

María Sanz Fernández

Directora

Amparo Rodríguez Sánchez

Madrid, 2019

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA



TESIS DOCTORAL

**ASPECTOS CLÍNICOS, BIOQUÍMICOS Y
GENÉTICOS DE PACIENTES CON HIPERPLASIA
SUPRARRENAL CONGÉNITA POR DÉFICIT DE 21
HIDROXILASA DETECTADOS MEDIANTE
PROGRAMA DE CRIBADO NEONATAL DE LA
COMUNIDAD AUTÓNOMA DE MADRID**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

MARÍA SANZ FERNÁNDEZ

**DIRECTORA
DRA. AMPARO RODRÍGUEZ SÁNCHEZ**

MADRID, 2018

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA



TESIS DOCTORAL

**ASPECTOS CLÍNICOS, BIOQUÍMICOS Y
GENÉTICOS DE PACIENTES CON HIPERPLASIA
SUPRARRENAL CONGÉNITA POR DÉFICIT DE 21
HIDROXILASA DETECTADOS MEDIANTE
PROGRAMA DE CRIBADO NEONATAL DE LA
COMUNIDAD AUTÓNOMA DE MADRID**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

MARÍA SANZ FERNÁNDEZ

**DIRECTORA
DRA. AMPARO RODRÍGUEZ SÁNCHEZ**

MADRID, 2018

DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Dra. Amparo Rodríguez Sánchez, adjunto de la Sección de Endocrinología Pediátrica del Hospital General Universitario Gregorio Marañón y Profesora Asociada de Pediatría de la Universidad Complutense de Madrid

CERTIFICA:

Que **Doña María Sanz Fernández** ha realizado bajo mi dirección y supervisión el proyecto de investigación titulado: ASPECTOS CLÍNICOS, BIOQUÍMICOS Y GENÉTICOS DE PACIENTES CON HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA POR DÉFICIT DE 21 HIDROXILASA DETECTADOS MEDIANTE PROGRAMA DE CRIBADO NEONATAL DE LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE MADRID.

Este estudio hace una valoración exhaustiva sobre los resultados del programa de cribado neonatal de hiperplasia suprarrenal congénita por déficit de 21 hidroxilasa de la Comunidad Autónoma de Madrid, demostrando la gran utilidad y eficacia que este cribado aporta.

Además en este proyecto se realiza una evaluación sobre el seguimiento de los pacientes con formas clásicas por déficit de 21 hidroxilasa atendidos en la Unidad Clínica de Diagnóstico y Seguimiento de esta enfermedad en la Comunidad Autónoma de Madrid desde el nacimiento hasta la edad adulta. Destaca por su aportación práctica para la mejoría en el manejo de un colectivo de pacientes que padecen una enfermedad considerada rara, basado en una cohorte amplia de pacientes ($n = 49$) seguida durante más de 20 años.

El presente trabajo reúne a mi juicio, las condiciones de originalidad y rigor metodológico para ser leído y defendido públicamente ante el tribunal correspondiente.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo el presente certificado en Madrid a quince de septiembre de dos mil dieciocho.

Fdo. Dra. Amparo Rodríguez Sánchez



*El buen médico trata la enfermedad; el gran médico
trata al paciente que tiene la enfermedad.
(William Osler)*

Agradecimientos

Gracias a mi directora de Tesis Doctoral, Dra. Amparo Rodríguez Sánchez, por compartir su enorme sabiduría y acompañarme durante el desarrollo de este trabajo. Por comprender las dificultades para realizarlo y por animarme en los momentos difíciles. Su cercanía en el trato y su confianza me han hecho valorarla y apreciarla más cada día.

A la Dra. Dolores Rodríguez Arnao. Gracias por haber confiado en mí desde el comienzo, por permitirme aprender de ella y por sus sabios consejos. Espero mantener siempre el amor a mi trabajo, la responsabilidad y el compromiso con los pacientes, tal y como me ha enseñado.

A la Dra. Esther González por su apoyo durante la realización de este trabajo y por su ejemplo de perseverancia.

Gracias a Isabel, Virginia y Gema, por compartir conmigo tantas reflexiones que me han ayudado a hacer una pausa, de vez en cuando, y no olvidarme de disfrutar el camino.

Gracias a la Dra. Elena Dulín, por su dedicación al Programa de Cribado Neonatal de Metabolopatías Congénitas y su magnífico trabajo, sin el cual esta Tesis no hubiera sido posible. A la Dra. Begoña Ezquieta, por su disponibilidad y eficiencia en la realización de los estudios de genética molecular. A la Dra. Nieves López, del Laboratorio de Hormonas y Biomarcadores y a la Dra. Laura Martínez, del Departamento de Bioquímica Clínica, por su amable colaboración con este proyecto. A la Dra. Esther Molina y a la Dra. María Fanjul, cirujanas pediátricas, por su profesionalidad y buen trato.

A José María Bellón, por su inestimable ayuda en el análisis estadístico.

A mis compañeros del Hospital de Fuenlabrada, con los que comencé la andadura, por haberme transmitido, además de enseñanzas, su entusiasmo por la Pediatría en general y por la Endocrinología Pediátrica en particular. A mis coerres y amigos, por tantos buenos momentos compartidos.

Gracias a mis queridos pacientes y sus padres, por su gran fortaleza.

A mis amigos, por los ánimos dados cuando más se necesitaban.

A mis padres, por su amor incondicional y por demostrarme cada día lo que es el esfuerzo, la dedicación y la entrega absoluta.

A mi querido hermano, por no rendirse ni dejar que me rinda, por saber sacarme siempre una sonrisa y por enseñarme tanto cada día.

A mi marido, Javi, por su honestidad, su comprensión y su apoyo constante. Gracias por hacer mi vida más feliz.

A mi hijo, Pablo, por llenar de risas e ilusiones mi vida.

Por último, me gustaría dedicar esta Tesis a dos personas muy especiales para mí. A mi tía, por haber llenado mi mochila de recuerdos, vivencias, sentimientos y amor. A mi abuela, una mujer luchadora, moderna e inteligente. Esta Tesis es para vosotras. Cada día, en mi trabajo siento que trabajo en nombre de las dos. Gracias por seguir cuidando de mí y por estar siempre conmigo. Os echo de menos.

ÍNDICE

RESUMEN	3
ABSTRACT	7
ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	13
1. INTRODUCCIÓN	17
1.1. La glándula suprarrenal	17
1.1.1. Biosíntesis de esteroides suprarrenales	17
1.1.1.a. Síntesis de mineralcorticoides	19
1.1.1.b. Síntesis de glucocorticoides	19
1.1.1.c. Síntesis de andrógenos suprarrenales	19
1.1.2. Regulación endocrina de la síntesis de los esteroides suprarrenales	20
1.1.2.a. Regulación de la síntesis de mineralcorticoides	21
1.1.2.b. Regulación de la síntesis de glucocorticoides	21
1.1.2.c. Regulación de la síntesis de andrógenos suprarrenales	22
1.1.3. Circulación, transporte y metabolismo de los esteroides suprarrenales	22
1.1.3.a. Glucocorticoides	22
1.1.3.b. Mineralcorticoides	23
1.1.3.c. Andrógenos	23
1.2. Hiperplasia suprarrenal congénita	24
1.2.1. Fisiopatología	25
1.2.1.a. Vía glucocorticoides	25
1.2.1.b. Vía mineralcorticoides	25
1.2.1.c. Vía esteroides sexuales	25
1.2.1.d. Vía catecolaminas	26
1.2.1.e. Puerta de atrás o backdoor pathway	27
1.2.2. Epidemiología	28
1.2.3. Formas clínicas	28
1.2.3.a. Formas clásicas	29
1.2.3.b. Forma no clásica o tardía	32
1.2.3.c. Forma críptica o asintomática	33
1.2.3.d. Portadores	33
1.2.4. Diagnóstico	34
1.2.4.a. Sospecha clínica	34
1.2.4.b. Cribado neonatal	36
1.2.5. Genética	39
1.2.6. Tratamiento	45
1.2.6.a. Tratamiento médico	46
1.2.6.b. Descompensación suprarrenal	50
1.2.6.c. Otras medidas terapéuticas en estudio	50
1.2.6.d. Control del tratamiento	51
1.2.6.e. Tratamiento quirúrgico	53
1.2.6.f. Tratamiento de las formas no clásicas	54
1.2.6.g. Diagnóstico y tratamiento prenatal	55
1.2.7. Crecimiento	56
1.2.7.a. Patrón de crecimiento normal	56
1.2.7.b. Crecimiento y corticoides	57
1.2.7.c. Crecimiento en 21OHD	58
1.2.8. Evolución	59
1.2.8.a. Pubertad	59
1.2.8.b. Mineralización	60

1.2.8.c.	Alteraciones metabólicas	60
1.2.8.d.	Fertilidad.....	61
1.2.8.e.	Restos suprarrenales ectópicos.....	62
1.2.8.f.	Adaptación psicosexual	63
2.	JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	71
2.1.	Justificación.....	71
2.2.	Hipótesis.....	73
2.3.	Objetivos	73
2.3.1.	Objetivo principal.....	73
2.3.2.	Objetivos secundarios.....	73
3.	SUJETOS, PACIENTES Y MÉTODOS.....	77
3.1.	Diseño y población de estudio.....	77
3.1.1.	Diseño del estudio	77
3.1.2.	Población de estudio.....	77
3.1.3.	Selección de pacientes	77
3.1.3.a.	Criterios de inclusión	77
3.1.3.b.	Criterios de exclusión	77
3.1.4.	Variables de estudio	77
3.2.	Pacientes y métodos	79
3.2.1.	Funcionamiento del Programa de Detección Precoz de HSC y la Unidad de Diagnóstico y Seguimiento de la Comunidad de Madrid.....	79
3.2.1.a.	Procedimiento para la detección precoz y localización de los pacientes	79
3.2.1.b.	Evaluación y seguimiento de los pacientes con resultado positivo en el programa de cribado	83
3.2.2.	Momentos de este estudio.....	86
3.2.3.	Recogida de datos.....	88
3.2.3.a.	Registro y transformación de parámetros clínicos	88
3.2.3.b.	Dosis de tratamiento	91
3.2.3.c.	Metodología de extracción de la muestra venosa para determinación de hormonas suprarrenales.....	93
3.2.3.d.	Metodología de determinaciones hormonales.....	93
3.2.3.d.1.	17-OH-Progesterona en papel absorbente.....	93
3.2.3.d.2.	17-OH-Progesterona en sangre venosa	94
3.2.3.d.3.	DHEA-S.....	95
3.2.3.d.4.	Testosterona.....	95
3.2.3.d.5.	Androstenediona	95
3.2.3.d.6.	Cortisol.....	96
3.2.3.d.7.	ACTH.....	96
3.2.3.d.8.	Aldosterona	97
3.2.3.d.9.	Actividad de renina plasmática	97
3.2.3.d.10.	Insulina.....	98
3.2.3.d.11.	IGF-1.....	98
3.2.3.d.12.	IGFBP-3.....	99
3.2.3.d.13.	TSH.....	99
3.2.3.d.14.	T4 libre.....	100
3.2.3.e.	Otras determinaciones analíticas.....	100
3.2.3.e.1.	Glucosa	100
3.2.3.e.2.	Sodio y potasio.....	101
3.2.3.e.3.	Gasometría	101
3.2.3.e.4.	Hemoglobina glicada	102
3.2.3.f.	Estudio genético-molecular.....	102
3.2.3.f.1.	Análisis directo del gen CYP21A2	103

3.2.3.f.2.	Análisis indirecto del gen CYP21A2	104
3.2.3.f.3.	Metodología del estudio genético-molecular	104
3.2.4.	Análisis estadístico	105
3.2.5.	Consideraciones éticas.....	106
4.	RESULTADOS	109
4.1.	Estudio descriptivo general	109
4.1.1.	Características generales de la población estudiada	110
4.1.1.a.	Sexo	110
4.1.1.b.	Antecedentes perinatales.....	110
4.1.1.c.	Antecedentes familiares	111
4.1.1.d.	Consanguinidad	112
4.1.1.e.	Infertilidad	112
4.1.1.f.	Muertes prematuras.....	112
4.1.1.g.	Etnia progenitores	112
4.1.1.h.	Pacientes excluidos	112
4.1.2.	Valoración al diagnóstico	113
4.1.2.a.	Forma clínica	113
4.1.2.b.	Edad al diagnóstico.....	113
4.1.2.c.	Modo de diagnóstico.....	116
4.1.2.d.	Cribado Neonatal	117
4.1.2.e.	Clínica.....	124
4.1.2.f.	Actitud al diagnóstico	125
4.1.2.g.	Variables analíticas al diagnóstico.....	125
4.1.2.h.	Tratamiento	129
4.1.3.	Genética.....	133
4.2.	Valoración durante el seguimiento.....	136
4.2.1.	Valoración durante los tres primeros años de vida	136
4.2.1.a.	Proporción de pacientes	136
4.2.1.b.	Valoración del peso.....	137
4.2.1.c.	Valoración de la talla	141
4.2.1.d.	Correlación de la talla en los primeros 3 años de vida con la talla genética	148
4.2.1.e.	Valoración de la velocidad de crecimiento	148
4.2.1.f.	Valoración del IMC	151
4.2.1.g.	Valoración de las dosis de tratamiento.....	154
4.2.1.h.	Correlación de las dosis de glucocorticoides y mineralcorticoides con la talla	158
4.2.1.i.	Valoración de los valores analíticos.....	162
4.2.1.j.	Valoración de la maduración ósea	166
4.2.1.k.	Patología renal asociada.....	168
4.2.1.l.	Número de consultas requeridas	168
4.2.1.m.	Número de descompensaciones	169
4.2.2.	Tratamiento quirúrgico en niñas.....	170
4.2.3.	Valoración durante la pubertad.....	171
4.2.3.a.	Edad inicio puberal	172
4.2.3.b.	Antropometría durante la pubertad	172
4.2.3.c.	Tratamiento durante la pubertad	173
4.2.3.d.	Variables analíticas durante la pubertad	175
4.2.3.e.	Valoración de la edad ósea durante la pubertad	176
4.2.4.	Valoración durante la edad adulta	179
4.2.4.a.	Edad a la que se alcanzó la talla adulta	179
4.2.4.b.	Peso e IMC en la edad adulta.....	179
4.2.4.c.	Talla en la edad adulta	181
4.2.4.d.	Tratamiento durante la edad adulta.....	188
4.2.4.e.	Variables analíticas durante la edad adulta	192
4.2.4.f.	Correlación entre edad ósea puberal y talla adulta.....	193

4.2.4.g. Curvas de crecimiento (peso, talla e IMC) de nuestra cohorte de pacientes	194
5. DISCUSIÓN	203
5.1. Descripción de los pacientes del estudio	203
5.1.1. Incidencia	203
5.1.2. Sexo	204
5.1.3. Cribado Neonatal.....	204
5.2. Situación clínica al diagnóstico.....	209
5.2.1. Características neonatales.....	209
5.2.2. Antecedentes familiares.....	209
5.2.3. Forma clínica.....	209
5.2.4. Modo de diagnóstico	209
5.2.5. Edad al diagnóstico.....	210
5.2.6. Clínica	214
5.2.7. Actitud al diagnóstico.....	214
5.2.8. Variables analíticas al diagnóstico.....	214
5.2.9. Tratamiento	215
5.2.10. Genética.....	219
5.3. Valoración durante el seguimiento.....	220
5.3.1. Valoración durante los tres primeros años de vida	220
5.3.1.a. Valoración del peso e IMC	220
5.3.1.b. Valoración de la talla y de la velocidad de crecimiento.....	221
5.3.1.c. Correlación entre las dosis de hidrocortisona y el crecimiento.....	223
5.3.1.d. Correlación de la talla en los tres primeros años de vida con la talla genética	224
5.3.1.e. Valoración de los valores analíticos en los tres primeros años de vida.....	224
5.3.1.f. Valoración de la maduración ósea	225
5.3.1.g. Patología renal asociada.....	226
5.3.1.h. Número de consultas requeridas	226
5.3.1.i. Número de descompensaciones	227
5.3.2. Valoración durante la pubertad.....	228
5.3.2.a. Edad inicio puberal	228
5.3.2.b. Antropometría durante la pubertad	228
5.3.2.c. Tratamiento durante la pubertad	229
5.3.2.d. Variables analíticas durante la pubertad	229
5.3.2.e. Valoración de la maduración ósea durante la pubertad.....	230
5.3.3. Valoración durante la edad adulta	232
5.3.3.a. Edad a la que se alcanzó la talla adulta.....	232
5.3.3.b. Antropometría en la edad adulta	232
5.4. Limitaciones y fortalezas del estudio	237
6. CONCLUSIONES	241
7. BIBLIOGRAFÍA	247
ANEXO 1.....	265

RESUMEN
Y
ABSTRACT

RESUMEN

ASPECTOS CLÍNICOS, BIOQUÍMICOS Y GENÉTICOS DE PACIENTES CON HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA POR DÉFICIT DE 21 HIDROXILASA DETECTADOS MEDIANTE PROGRAMA DE CRIBADO NEONATAL DE LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE MADRID.

Introducción: El manejo de los niños con déficit de 21 hidroxilasa (21OHD) continúa siendo un desafío, especialmente respecto al potencial de crecimiento. El principal tratamiento del 21OHD son los corticoides, y el objetivo fundamental del tratamiento es prevenir las crisis adrenales derivadas de dosis bajas de corticoides, disminuir la virilización de las mujeres afectas y prevenir la talla baja derivada del hiperandrogenismo. Aunque el cribado neonatal de 21OHD ha mejorado la mortalidad y el pronóstico de talla adulta, establecer la optimización del tratamiento glucocorticoideo continua siendo un reto por el potencial efecto de los glucocorticoides en sí mismos en la reducción del crecimiento lineal y el hiperandrogenismo derivado del infratratamiento que precipitará el cierre de las epífisis, resultando en una reducción de la talla final.

El empleo de dosis altas iniciales de glucocorticoides se ha propuesto para prevenir el hiperandrogenismo crónico y mejorar el pronóstico de talla adulta de los pacientes con 21OHD.

Objetivo: El objetivo de nuestro estudio fue analizar los patrones de crecimiento de niños con formas clásicas de 21OHD diagnosticados mediante cribado neonatal y tratados con dosis relativamente altas de hidrocortisona durante el primer año de vida, identificar los factores que influyen en el crecimiento y la talla adulta de estos pacientes.

Pacientes, material y métodos: En este estudio, se analiza retrospectivamente un amplio grupo de pacientes con formas clásicas de 21OHD diagnosticados mediante cribado neonatal en diferentes etapas del desarrollo (desde el nacimiento hasta los 3 años, al inicio de la pubertad y al alcanzar talla adulta). Estos pacientes fueron seguidos en un mismo centro, en un periodo de 25 años, lo que asegura la uniformidad de los protocolos y del manejo, haciendo las comparaciones más reales.

Resultados: Durante el periodo de estudio desde 1990 a 2015, 49 niños han sido diagnosticados de formas clásicas por 21OHD (39 formas pérdida salina y 10 virilizante

simple). Todos los pacientes fueron tratados con dosis iniciales relativamente altas de hidrocortisona. Cuarenta y seis pacientes fueron tratados además con fludrocortisona.

La edad media al diagnóstico para los pacientes con forma pierde sal y forma virilizantes simple fue 8,0 (6,0 - 9,0) y 18,0 (14,5 – 37,5) días respectivamente (P= 0,001).

En 35 (76,1%) pacientes, la enfermedad no había sido sospechada antes del resultado del cribado neonatal, 28 pacientes afectos de forma pierde sal con potencial riesgo de muerte por crisis adrenal, (de los cuales, 6 eran además mujeres con asignación incorrecta de sexo al nacimiento) y 7 pacientes afectos de forma virilizante simple sin sospecha clínica de enfermedad, han obtenido un beneficio absoluto del cribado neonatal.

El motivo de sospecha más común fue la ambigüedad genital en mujeres seguido por los antecedentes familiares de la enfermedad. Dos tercios de los pacientes con formas clásicas identificados mediante cribado neonatal estaban en sus domicilios sin sospecha de ninguna enfermedad ni pendientes de ningún estudio complementario.

En los 3 primeros años de vida, pese a partir de longitudes al nacimiento equiparables a las de la media poblacional, los pacientes presentaron un patrón de crecimiento inferior al de la población española de referencia. El Z-score de la talla en las mujeres es significativamente inferior al de los hombres, siendo esta diferencia más pronunciada a los 3 años de edad. El crecimiento no difiere por la forma clínica en los 3 primeros años de vida. Las dosis iniciales altas de hidrocortisona empleadas al diagnóstico y el retraso en alcanzar las dosis consideradas de mantenimiento (20-25 mg/m²/día), ejercen un efecto negativo en el crecimiento a los 3 meses de edad pero no parecen afectar al crecimiento posterior.

La talla a los 6 meses de edad se correlaciona de forma inversa con la dosis de hidrocortisona recibida a los 3 meses y la talla a los 12 meses de edad lo hace con la dosis de hidrocortisona a los 3 y 6 meses.

La talla a los 3 años se correlaciona de forma directa con la talla adulta.

La maduración ósea no excede a la edad cronológica a los 3 años de vida ni en la pubertad en pacientes con forma pierde sal pero está acelerada en pacientes con forma virilizante simple.

La reducción del crecimiento es mayor en pacientes con forma virilizante simple (-1,39 ± 1,53) que en pérdida salina (-0,07 ± 0,97) al llegar a edad adulta. La talla adulta alcanzada no difiere de la talla genética.

La talla adulta se correlaciona de forma negativa con el adelanto de la edad ósea y la dosis de fludrocortisona en la pubertad.

Conclusiones: El cribado neonatal proporcionó un mejor rendimiento que la sospecha clínica. Nuestros datos sugieren que dosis iniciales altas de hidrocortisona no afectan profundamente a la talla adulta. El crecimiento lineal es el mejor parámetro para monitorizar el control metabólico en las formas clásicas de 21OHD. El efecto que el hiperandrogenismo ejerce sobre la maduración ósea parece ser el factor que más influye sobre la talla adulta.

PALABRAS CLAVE: hiperplasia suprarrenal congénita, déficit de 21 hidroxilasa, forma pierde sal, forma virilizante simple, cribado neonatal, dosis de hidrocortisona, dosis de fludrocortisona, crecimiento, talla adulta.

ABSTRACT

CLINICAL, BIOCHEMICAL AND GENETIC ASPECTS OF PATIENTS WITH CONGENITAL ADRENAL HYPERPLASIA BY 21- HYDROXILASE DEFICIENCY DETECTED BY THE NEWBORN SCREENING PROGRAM OF THE AUTONOMOUS COMMUNITY OF MADRID.

Introduction: The management of children with 21-hydroxylase deficiency (21OHD) remains a challenge, especially with regard to growth potentials. 21OHD is mainly treated with glucocorticoid supplementation, and the major goals of the treatment are preventing adrenal crisis caused by shortage of glucocorticoid, decreasing virilization of female patients and preventing short stature caused by androgen excess. Although the newborn screening of 21OHD has improved the mortality and the prognosis of final height, establishing an optimized protocol of glucocorticoid treatment is still challenging because glucocorticoid itself has a strong potential to reduce linear growth, while androgen excess due to undertreatment precipitates the closure of the epiphyseal growth plates, resulting in a reduction of final height.

An initial high-dose of glucocorticoid has been proposed to prevent chronic androgen excess, improving the final height prognosis of 21OHD patients.

Objectives: The objectives of our analysis were to analyze growth patterns in children with classical 21OHD diagnosed by newborn screening and treated with relatively high doses of hydrocortisone during the first year of life and to uncover the factors that influence the growth and final height of these patients.

Patients, material and methods: The present data were derived from a retrospective analysis of a relatively large group of patients with classical 21OHD patients discovered by newborn screening, at different developmental stages (birth to 3 years, at puberty initiation, at final height). The patients were cared for in a single institution, over a period of 25 years, ensuring a fairly uniform approach and the continuity of care, thus making the comparisons more reliable.

Results: During the period from 1990 to 2015 of this study 49 children were diagnosed with classical 21OHD (39 with the salt-wasting and 10 with simple virilizing). All patients were treated with relatively initial high doses of hydrocortisone (100 mg/m² body surface area). Forty six patients were additionally treated with fludrocortisone.

The median age at diagnosis for the patients with the salt-wasting and simple virilizing form were 8,0 (6,0 - 9,0) and 18,0 (14,5 – 37,5) days respectively (P= 0,001).

In 35 (76.1%) patients the disease had not been suspected before the result of newborn screening, 28 patients affected by salt-wasting form, with a potential risk of death due to adrenal crisis (of which, in addition 6 women with incorrect assignment of sex at birth) and 7 patients affected with simple virilizing form without clinical suspicion of disease have obtained an absolute benefit of newborn screening.

The most frequent reason for clinical suspicion was genital ambiguity in women followed by family history of the disease. Two thirds of the patients with classic forms identified by neonatal screening were in their homes without suspicion of any disease or pending any additional study.

In the first 3 years of life, despite starting at birth lengths comparable to the population mean, patients presented a growth pattern lower than the reference Spanish population. The Z-score of height in women was significantly lower than that of men, this difference being more pronounced at 3 years of age. The growth does not differ according to the clinical form in the first 3 years of life.

The initial high doses of hydrocortisone used at diagnosis and the delay in reaching the doses considered maintenance (20-25 mg/m²/ day), exert a negative effect on the growth achieved at 3 months of age but do not affect the subsequent growth.

Height at 6 months of age was negatively related to the hydrocortisone dose at 3 month (R = -0,418, P= 0,004) and height at 12 month of age was negatively related to the hydrocortisone dose at 3 and 6 months (R = -0,364 y R = -0.413, respectively).

Height at 3 years of age correlates directly with adult height.

Bone age did not exceed chronological age at the 3 first years of life and at puberty in patients with salt-wasting form but is accelerated in patient with simple virilizing form.

The average adult height in men is lower than the Spanish reference population (-1,04 ± 1,28) but in women it is higher than the population average (0,27 ± 1,13). The reduction of growth is higher in patients with simple virilizing form (-1,39 ± 1,53) than in the salt-wasting (-0,07 ± 0,97) at adult aged. Final height achieved was not different from target height.

Adult height showed a negative correlation to the accelerated bone age and to the fludrocortisone dose at the puberty.

Conclusions: Neonatal screening provided better performance than clinical suspicion.

Our data suggest that an initial high-dose hydrocortisone treatment does not profoundly affect adult height. Linear growth is the best clinical parameter for monitoring metabolic control in classical forms of 21OHD. The effect of high androgens on bone age acceleration appeared to have a more negative impact on adult height.

KEY WORDS: congenital adrenal hyperplasia, 21 hydroxylase deficiency, salt-wasting form, simple virilizing form, newborn screening, hydrocortisone dose, fludrocortisone dose, growth, final height.

ABREVIATURAS
Y
ACRÓNIMOS

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

- ACTH: adrenocorticotropina
- acilCo: colesterol aciltransferasa
- A-II: angiotensina II
- ARP: actividad de renina plasmática
- 9 α -F: 9-alfa-fluorhidrocortisona
- CBG: globulina fijadora de corticoesteroides
- ClNa: cloruro sódico
- CRH: hormona liberadora de corticotropina
- CV: coeficiente de variación
- DE: desviación estándar
- DHT: dihidrotestosterona
- DMO: densidad mineral ósea
- DNA: ácido desoxirribonucleico
- DOC: 11-desoxicorticosterona
- DHEA: dehidroepiandrosterona
- DHEAS: dehidroepiandrosterona sulfato
- ECA: enzima de conversión de angiotensina
- ELISA: enzimoimmunoanálisis
- FIA: fluoroinmunoanálisis
- GH: hormona de crecimiento
- HDL: lipoproteínas de alta densidad
- HSC: hiperplasia suprarrenal congénita
- HSD: enzima 3 α -hidroxiesteroide deshidrogenasa
- HGUGM: Hospital General Universitario Gregorio Marañón
- IGF1: factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1

IMC: índice de masa corporal

Kb: kilobases

LDL: lipoproteínas de baja densidad

mRNA: ácido ribonucleico mensajero

21OHD: déficit de 21 hidroxilasa

17-OHP: 17-hidroxiprogesterona

21-OH: enzima 21-hidroxilasa

PCN: Programa de Cribado Neonatal

Pdiol : 5α -pregnano- $3\alpha,17\alpha$ -diol-20-ona

Pdiona: 5α -pregnano- 17α -ol-3,20-diona

PS: forma pérdida salina

PTA: pronóstico de talla adulta

RN: recién nacido

RIA: radioinmunoanálisis

SHBG: proteína de transporte de los esteroides sexuales

TA: talla adulta

TD: talla diana

TG: talla genética

T4L: 3,5,3',5'-l-tetrayodotironina libre o tiroxina libre

TSH: tirotropina

VC: velocidad de crecimiento

VS: forma virilizante simple

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. La glándula suprarrenal

Las glándulas suprarrenales son órganos pares de morfología piramidal que en el ser humano se localizan en el polo superior de ambos riñones, entre las vértebras T11 y L1, y están rodeadas por una capa de tejido conectivo que forma la cápsula suprarrenal. Cada suprarrenal está constituida por dos tejidos endocrinos, la corteza y la médula, que se diferencian desde el punto de vista embriológico, anatómico y bioquímico. La corteza suprarrenal deriva del mesodermo y es responsable de la síntesis de diversos esteroides esenciales para la supervivencia del organismo. La médula suprarrenal, deriva del neuroectodermo y se relaciona con el sistema nervioso simpático, respondiendo a su estímulo con la liberación de adrenalina y noradrenalina^{1,2}. Entre corteza y médula suprarrenal existe un complejo entramado de reguladores locales que participan en el control de la esteroidogénesis suprarrenal y en el que intervienen productos de origen medular^{3,4}.

Desde el punto de vista histológico, la corteza suprarrenal está formada por tres zonas diferentes: glomerular, fascicular y reticular. La zona glomerular, es la capa más externa, y es responsable de la secreción de aldosterona. La zona fascicular, es la capa intermedia y es responsable de la secreción de cortisol. La capa más interna, es la zona reticular, responsable de la síntesis de andrógenos y, en menor medida de cortisol.

1.1.1. Biosíntesis de esteroides suprarrenales

En la esteroidogénesis suprarrenal intervienen seis enzimas pertenecientes a la familia de las proteínas citocrómicas P-450, localizadas en la mitocondria o en el retículo plasmático (microsomales). Se trata de enzimas de alto peso molecular que poseen un grupo hemo y que reducen O₂ empleando electrones donados por NADPH. La regulación de las actividades enzimáticas P-450 en las diferentes zonas de la suprarrenal depende de los estímulos tróficos, de la demanda fisiológica (volumen intravascular, concentraciones séricas de sodio o de glucosa, etc.), y del gradiente de oxígeno y de esteroides a través del lecho capilar que atraviesa las tres capas de la corteza suprarrenal.

El precursor común de todas las hormonas esteroideas es el colesterol. El 80% del colesterol procede de la ingesta calórica (transportado en forma de lipoproteínas de baja densidad (LDL), mientras que el 20% es sintetizado *de novo* a partir del acetato y del coenzima A (acetilCoA)^{1,2,5,6}. El proceso de captación de colesterol está mediado por

receptores de superficie específicos para LDL, cuyo número aumenta proporcionalmente a la actividad esteroidogénica que exista. Al interactuar el LDL con su receptor, se produce la endocitosis de la lipoproteína, que será degradada en los lisosomas, liberándose colesterol libre para su incorporación a la ruta esteroidogénica^{7,8}.

En las células suprarrenales, el ACTH aumenta el número de receptores para las LDL, así como la actividad del enzima colesterol esterasa que libera colesterol libre a partir de sus ésteres^{8,9}. Según los requerimientos celulares, este colesterol libre puede almacenarse en forma de gotas lipídicas tras su esterificación por acción de la acilCo: colesterol aciltransferasa (ACAT). Los depósitos de ésteres de colesterol pueden movilizarse por acción de la colesterol esterasa (lipasa sensible a hormona o HSL) que genera colesterol libre, para su incorporación en la esteroidogénesis^{7,8}. En el interior de la célula, las moléculas de colesterol libre son transportadas hacia las mitocondrias en un proceso en el que intervienen factores como la proteína transportadora de esterol (SCP2), el polipéptido activador de la esteroidogénesis (SAP), y una familia de proteínas relacionadas con StAR, llamadas StarD^{8,10}.

Además existe un sistema alternativo de transporte de ésteres de colesterol al interior de las células esteroidogénicas, en el que están implicadas lipoproteínas de alta densidad (HDL) y su receptor específico, denominado receptor scavenger clase BI (SR-BI) o CLA-1 (de CD 36 and LIMP II analogous-1)^{8,11}. La exposición de los receptores SR-BI que hay en las células suprarrenales al HDL estimula la síntesis de esteroides suprarrenales en presencia de ACTH^{8,9}.

El transporte del colesterol al interior de la mitocondria y conversión del colesterol en pregnenolona (P-450-scc) es la primera etapa limitante en la esteroidogénesis suprarrenal. Esta etapa está mediada por el enzima colesterol desmolasa (P450scc ó P450 side chain cleavage) que interviene en tres reacciones químicas que permiten la transformación del colesterol en pregnenolona: una 20 α -hidroxilación, una 22-hidroxilación y el corte de la cadena lateral unida en posición 20-22^{12,13}. La P450scc se ubica en la membrana interna mitocondrial, de modo que para unirse a ella, el colesterol debe ser transportado desde la membrana externa a la interna de la mitocondria. Este proceso está mediado por una proteína transportadora denominada StAR (steroidogenic acute regulatory protein)^{7,14,15}. Esta proteína es imprescindible para la esteroidogénesis suprarrenal y gonadal, puesto que sus mutaciones provocan hiperplasia suprarrenal lipoidea.

Una vez completada la síntesis de pregnenolona, ésta será utilizada como sustrato por sistemas enzimáticos ubicados en el retículo endoplásmico, tales como P450c17 o 3 β HSD, para su incorporación en las distintas vías de la ruta esteroidogénica (figura 1).

1.1.1.a. Síntesis de mineralcorticoides

En la zona glomerulosa, la falta de expresión de P450c17 dirige la conversión de pregnenolona en progesterona, por acción de la enzima 3 β -hidroxiesteroide-deshidrogenasa- Δ 5- Δ 4-isomerasa (3 β HSD), único enzima de la esteroidogénesis suprarrenal no citocromo P450. Esta enzima es responsable de la reducción de un grupo –OH en posición C3 y de la isomerización del doble enlace de posición C5-6 a C4-5 en la molécula de pregnenolona^{1,2,12,16}. La progesterona sintetizada en el retículo endoplásmico es convertida en 11-desoxicorticosterona (DOC) por acción de la enzima 21-hidroxilasa o p450c21. Finalmente, la DOC es transformada en aldosterona por la acción de un sistema enzimático denominado P450c11/aldosterona sintetasa que es codificado por el gen CYP11B2 y que posee una triple actividad enzimática: 11 β -hidroxilasa, 18-hidroxilasa y 18-oxidasa.

1.1.1.b. Síntesis de glucocorticoides

En la zona fascicular, la pregnenolona es mayoritariamente convertida en 17OH-pregnenolona por acción del sistema enzimático P450c17, con doble actividad enzimática: 17 α -hidroxilasa y 17,20-liasa^{12,16}. La 17 α -hidroxilasa es la responsable de la generación de 17OH-pregnenolona, que es convertida a progesterona por acción de la 3 β HSD^{12,16}. Alternativamente, la pregnenolona puede ser convertida a progesterona por acción de la 3 β HSD, y ésta en 17OH-progesterona gracias a la actividad 17 α -hidroxilasa de la P450c17. Finalmente, la 17OH-progesterona, por acción de la enzima P450c21, es convertida en 11-deoxicortisol y éste a su vez es transformado en cortisol a través de la enzima P450c11.

En la zona fascicular, se detecta una elevada actividad P450c17, con predominio 17 α -hidroxilasa pero escasa actividad 17,20 liasa, lo que causa una síntesis elevada de cortisol. Sin embargo, en la zona reticular hay una alta expresión de la enzima P450c17, con actividad 17,20 liasa, que conduce a la síntesis de andrógenos¹⁷.

1.1.1.c. Síntesis de andrógenos suprarrenales

En la zona reticular se produce la síntesis de andrógenos suprarrenales a través de un conjunto de reacciones comunes a las de la síntesis de glucocorticoides, que conducen a la formación de 17OH-pregnenolona y 17OH-progesterona^{1,18}. A partir de este punto, la actividad 17,20 liasa de la enzima P450c17 determina la conversión de éstas en DHEA y

androstendiona, respectivamente. La DHEA sufre un proceso de sulfatación por la acción de una sulfotransferasa citosólica, que da lugar a DHEA-sulfato.

COLESTEROL

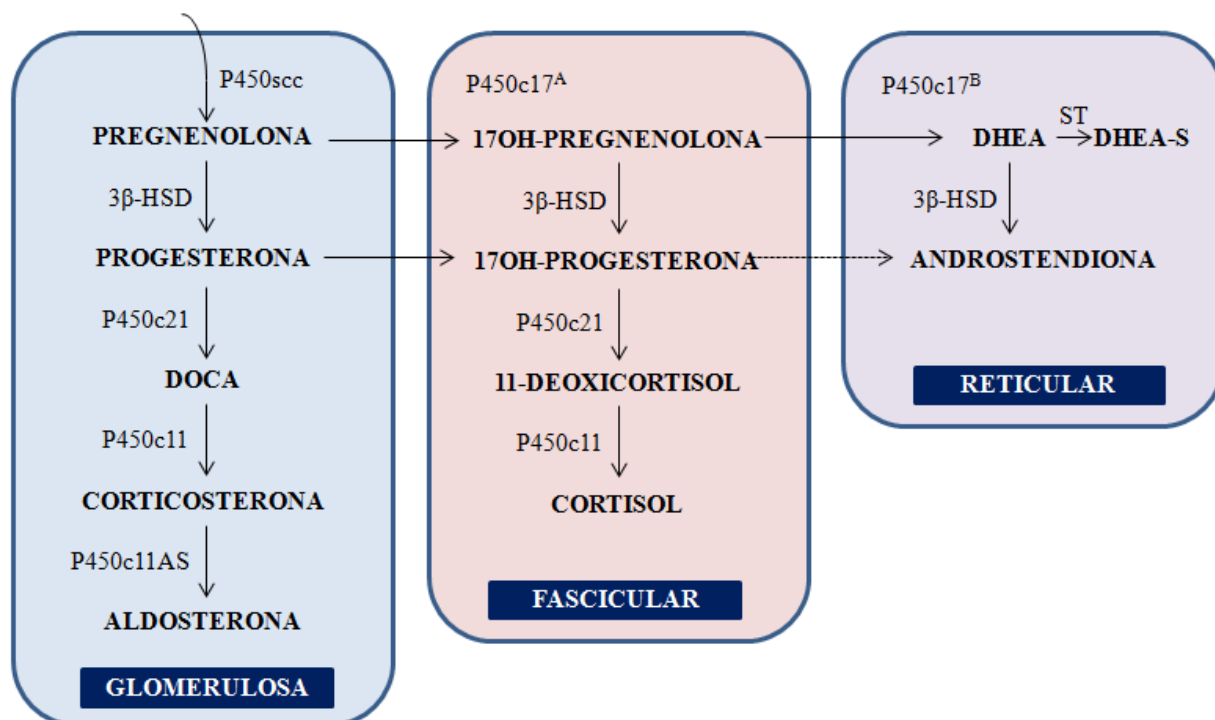


Figura 1. Esquema de la esteroidogénesis suprarrenal

P450c17A: En la zona fascicular, se detecta una elevada actividad P450c17, con predominio 17α-hidroxilasa pero escasa actividad 17,20 liasa, lo que causa una síntesis elevada de cortisol.

P450c17B: En la zona reticular, hay una alta expresión de la enzima P450c17, con elevada actividad 17,20 liasa, cuyo sustrato preferencial es la 17OH-pregnenolona. Ello, unido a la escasa actividad P450c21 y c11 en esta zona, hace que la síntesis se dirija hacia la producción de DHEA y su derivado sulfato, por acción de una sulfotransferasa (ST), de expresión selectiva en la reticular.

1.1.2. Regulación endocrina de la síntesis de los esteroides suprarrenales

La secreción de esteroides corticosuprarrenales está sometida a mecanismos de control muy precisos que permiten ajustar la tasa de secreción de los distintos esteroides suprarrenales a las demandas fisiológicas del organismo.

En el ser humano, la tasa de secreción alcanza 8-25 mg/día para el cortisol, 6-8 mg/día para la DHEA, 2mg/día para la androstendiona y 0,15 mg/día para la aldosterona¹⁹.

1.1.2.a. Regulación de la síntesis de mineralcorticoides

La secreción de aldosterona está estrechamente relacionada con sus acciones biológicas como reguladora de la volemia y de la concentración de sodio en el medio extracelular.

Los principales estimuladores fisiológicos de la secreción de aldosterona son la activación del sistema renina-angiotensina y el aumento de los niveles de potasio extracelular. También es sensible a los niveles de sodio y a la ACTH hipofisaria.

El sistema renina-angiotensina es el principal regulador hormonal de la secreción de aldosterona, a través de una cascada de reacciones proteolíticas que conducen a la generación de angiotensina II (A-II). La A-II procede de un precursor hepático, el angiotensinógeno, cuyo metabolismo corre a cargo de dos enzimas, la renina, producida por las células yuxtglomerulares que hay en las arteriolas aferentes de los glomérulos renales y la enzima de conversión (ECA) de origen pulmonar. La primera, transforma el angiotensinógeno en angiotensina I y la segunda, convierte la angiotensina I en A- II^{20,21}. La disminución de la concentración de ClNa y la reducción de la presión de perfusión estimulan la secreción de renina, a través de un sistema de barorreceptores localizado en las arteriolas contiguas a las células yuxtglomerulares.

Otro factor regulador de la síntesis de aldosterona es el péptido natriurético atrial (ANP), sintetizado en la pared auricular, que inhibe la síntesis de aldosterona, al reducir la expresión del gen StAR y disminuir la secreción de renina por el aparato yuxtglomerular²².

1.1.2.b. Regulación de la síntesis de glucocorticoides

La síntesis de glucocorticoides está bajo el control casi exclusivo de la adrenocorticotropina (ACTH) o corticotropina hipofisaria. Esta hormona es secretada por las células corticotropas de la hipófisis anterior y generada por el procesamiento proteolítico de un precursor denominado proopiomelanocortina (POMC). La síntesis y liberación de la ACTH por las células corticotropas de la hipófisis está bajo el control estimulador del neuropéptido hipotalámico CRH (hormona liberadora de corticotropina)^{18,19}.

La ACTH ejerce dos tipos de efectos sobre la esteroidogénesis: los efectos agudos (en pocos minutos), aumentando la transformación del colesterol en pregnenolona al activar el encima P450_{scc} y los crónicos (que requieren horas o días), aumentando la síntesis de la mayoría de las enzimas de la esteroidogénesis, y como consecuencia la síntesis de proteínas y DNA de las células suprarrenales, provocando hipertrofia e hiperplasia.

Por su parte, el cortisol ejerce acciones de autoinhibición negativas, tanto a nivel hipotalámico como hipofisario.

La secreción de ACTH y cortisol tiene carácter episódico y viene marcada por un ritmo circadiano acoplado al patrón de sueño/vigilia. La secreción de cortisol es máxima entre las 4:00 y las 8:00 (antes de despertar, valores de hasta 20 µg/dl) y mínima entre las 20:00 y las 24:00 (valores aproximadamente 5 µg/dl)¹⁸. El ritmo circadiano del cortisol se inicia en torno al mes de vida en los neonatos nacidos a término^{23,24}.

1.1.2.c. Regulación de la síntesis de andrógenos suprarrenales

Los mecanismos por los que se regulan los andrógenos suprarrenales, DHEA y androstendiona, no están completamente aclarados. Mientras que la ACTH estimula la producción de andrógenos suprarrenales de forma aguda y es el principal estímulo de la liberación de cortisol, se han identificado factores adicionales, como la adrenalina, que promueven la secreción de andrógenos suprarrenales. Estos comprenden un descenso relativo de la expresión de 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa en la zona reticular, y posiblemente aumentos de la actividad de la 17,20-liasa debido a la fosforilación de CYP17 o al aumento de la expresión del citocromo b5¹⁷.

1.1.3. Circulación, transporte y metabolismo de los esteroides suprarrenales

1.1.3.a. Glucocorticoides

El cortisol es el principal glucocorticoide que circula en sangre periférica. El 95% del cortisol circula unido a una proteínas y el resto lo hace de forma libre, siendo sólo la fracción libre biológicamente activa^{25,26}. Del cortisol unido a proteínas, el 70% circula unido a una proteína específica por la que tiene alta afinidad, llamada transcortina o CBG (Corticosteroid Binding Globulin), el resto circula, con menor afinidad, unido a la albúmina y a los hematíes. Otras hormonas también pueden unirse a la CBG, desplazando al cortisol: progesterona, aldosterona, DOCA, corticosterona, prednisona y prednisolona.

La vida media del cortisol es de 60-80 minutos siendo metabolizado principalmente en el hígado. El 90% del cortisol y sus metabolitos son excretados por el riñón en la orina y el resto es eliminado por vía intestinal²⁷.

La secreción de cortisol sigue un ritmo circadiano con niveles bajos al inicio de la noche, que aumentan entre la 1am y 4 am, llegando al pico máximo en torno a las 8 am para después ir decreciendo a lo largo del día (figura 2).

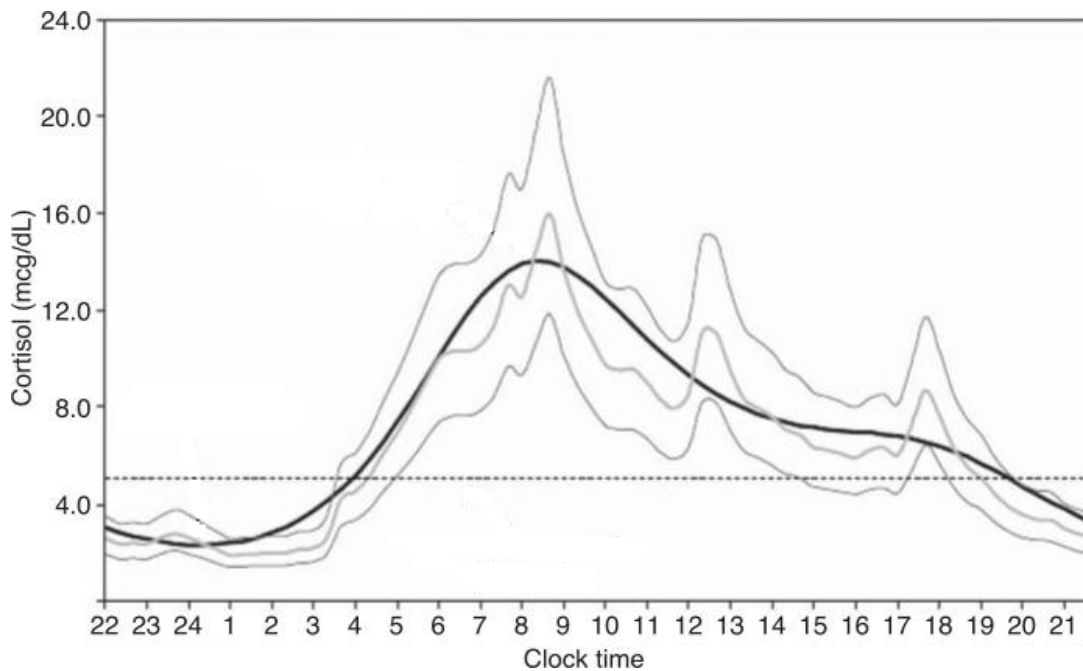


Figura 2. Ritmo circadiano de cortisol²⁸

1.1.3.b. Mineralcorticoides

El principal mineralcorticoide circulante en sangre periférica es la aldosterona, siendo menos activos, aunque su concentración sea superior, la DOCA y la corticosterona. La aldosterona se une a la CBG con el 10% de afinidad con respecto a la del cortisol. La vida media de la aldosterona es aproximadamente 45 minutos, se metaboliza en el hígado y sus metabolitos son excretados por la orina²⁷.

1.1.3.c. Andrógenos

Los dos principales andrógenos de origen suprarrenal son la androstendiona y la DHA, que sólo son activos por metabolismo periférico al transformarse en testosterona y dihidrotestosterona (DHT). Androstendiona y DHA se unen a la proteína de transporte de los esteroides sexuales SHBG, aunque lo hacen con menor afinidad que la testosterona y la dihidrotestosterona.

Estos esteroides son metabolizados en el hígado, aunque una proporción importante lo hace en las gónadas, piel y tejido adiposo. La vida media de la DHA es sólo 25 minutos, sin embargo, su principal metabolito sulfatado, DHA-S tiene una vida media de 8-11 horas.

1.2. Hiperplasia suprarrenal congénita

En 1865, De Crecchio de la Universidad de Nápoles describió uno de los primeros casos de hiperplasia suprarrenal congénita (HSC); una persona con genitales ambiguos y otras características debidas a la alteración metabólica de la síntesis de cortisol²⁹.

La HSC engloba un grupo de trastornos hereditarios de la esteroidogénesis suprarrenal, por déficit enzimático, esencial para la biosíntesis de cortisol. El déficit de cortisol consecuente incrementa la producción de hormona adrenocorticotropa (ACTH) mediante un mecanismo de retroalimentación negativa y, secundariamente, produce una hiperestimulación de la corteza suprarrenal, aumenta el tamaño de las glándulas suprarrenales y provoca la elevación de los esteroides previos al bloqueo enzimático³⁰⁻³².

En función del bloqueo enzimático, se conocen distintas formas clínicas de HSC. Por orden de frecuencia las enzimas implicadas son:

- 21-hidroxilasa (P450c21): 90-95% de los casos
- 11- β -hidroxilasa (P450c11): 3-5% de los casos
- 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3- β -HSD): 2%
- 17-alfa-hidroxilasa (P450c17)
- Proteína STAR (*steroidogenic acute regulatory protein*) (hiperplasia lipoidea)
- 20-22 desmolasa

El bloqueo enzimático implica disminución de la síntesis de las hormonas situadas por debajo del bloqueo y un incremento de los metabolitos precursores.

Las manifestaciones clínicas dependerán del sexo del paciente, de la intensidad del déficit y de la afectación de la síntesis de cortisol y/o aldosterona, y el aumento o disminución de los esteroides sexuales. En las formas severas o clásicas, el déficit es completo e inician sus manifestaciones en la época fetal; en las formas moderadas o no clásicas, el déficit es parcial y se manifiestan clínicamente en la infancia y adolescencia e incluso pueden pasar desapercibidas hasta la edad adulta.

En este trabajo sólo se estudiarán pacientes con formas clásicas por déficit de 21 hidroxilasa (21OHD).

1.2.1. Fisiopatología

La deficiencia de 21-hidroxilasa supone el 95% de los casos de HSC, está causado por mutaciones en el gen CYP21A2 que codifica la enzima 21-hidroxilasa que es catabolizada por el citocromo P450c21³³. La severidad del compromiso de la función del citocromo P450c21 es la que determina la clínica, que se manifiesta en grados variables de déficit de cortisol y aldosterona asociados a un exceso de andrógenos (androstendiona, dehidroepiandrosterona...). Existen tres formas clínicas de presentación:

- Forma clásica con pérdida salina (75% de los casos) con una actividad enzimática del 0–1%.
- Forma clásica sin pérdida salina o virilizante simple (15-25% de los casos) con una actividad enzimática del 1–2%.
- Forma tardía (1% de los casos) con una actividad enzimática hasta del 50%.

La diferenciación entre virilizante simple y pierde sal no es nítida: existen formas con manifestaciones clínicas intermedias.

1.2.1.a. Vía glucocorticoides

Se impide la transformación de 17-hidroxiprogesterona (17-OHP) en 11-desoxicortisol y, por consiguiente, existe déficit de cortisol. El estímulo secundario de ACTH produce un aumento de los precursores del bloqueo en la zona fascicular, aumenta la pregnenolona y progesterona (mineralcorticoides) y 17-OH-progesterona y 17-OH-pregnenolona (glucocorticoides).

Las consecuencias clínicas resultantes provienen del déficit de cortisol que causa insuficiencia suprarrenal y del incremento en la producción de andrógenos.

1.2.1.b. Vía mineralcorticoides

La incapacidad de transformar la progesterona en desoxicorticosterona (DOC) da lugar al déficit de aldosterona responsable de la pérdida salina, lo que provoca un shock hipovolémico con hipotensión. En el intento de estimular la síntesis de aldosterona, aumentan los niveles de renina y angiotensina

1.2.1.c. Vía esteroides sexuales

La 17-OH-pregnenolona conduce a la DHEA y a la DHEAS que en hígado se convierte en delta-4-androstendiona y testosterona.

La 17-OH-progesterona en exceso induce a un aumento de la producción de delta-4-androstendiona, que en hígado, músculo y piel se convierte en testosterona. En las células diana donde actúa se convierte en DHT.

1.2.1.d. Vía catecolaminas

La corteza y la médula adrenal forman una unidad funcional y la alteración de una de ellas puede tener efecto en la otra. Las células cromafines en una glándula suprarrenal normal están en estrecho contacto con las células de la corteza, las células del sistema inmune, células nerviosas y células endoteliales formando complejos circuitos de regulación intraadrenal. Estas interacciones paracrinas entre los diferentes componentes de la glándula juegan un importante papel en el desarrollo, proliferación celular, ritmo circadiano y zonificación de la glándula adrenal y son fundamentales para la producción basal hormonal y ajuste fino de la glándula ante situaciones de estrés o enfermedad (véase figura 3).

Los pacientes con déficit de 21-hidroxilasa presentan una disfunción medular que puede ser debida a una alteración en el desarrollo de la formación de la médula durante la embriogénesis, debido a una combinación de varios factores, entre los que se encuentra el déficit de cortisol intraútero. Esta hipofunción adrenomedular se traduce clínicamente en que pacientes con el fenotipo más grave de déficit de 21-hidroxilasa sean más susceptibles a sufrir una crisis adrenal ante situaciones de estrés a pesar de un adecuado tratamiento con gluco y mineralcorticoides³⁴.

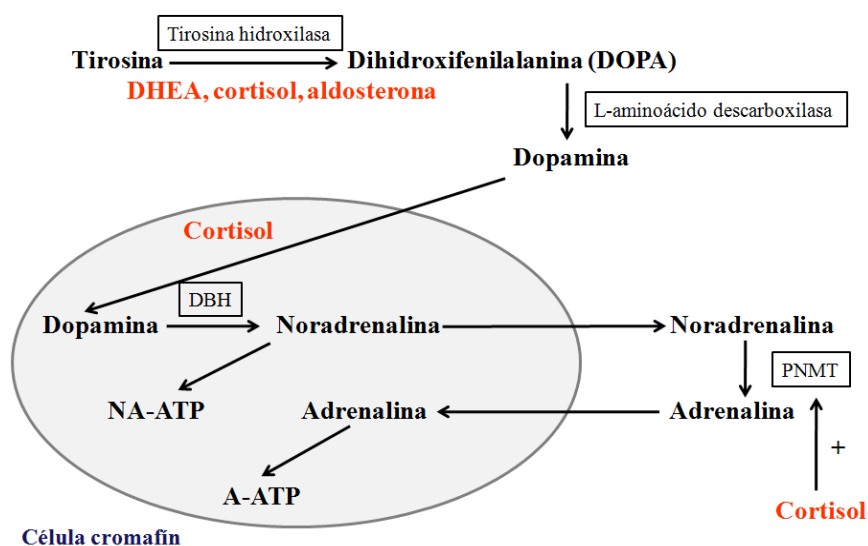


Figura 3. Esquema de la biosíntesis de catecolaminas en las células cromafines de la médula suprarrenal. DBH: dopamina betahidroxilasa, PNMT: feniletanolamina-N-metiltransferasa.

1.2.1.e. Puerta de atrás o backdoor pathway

La principal ruta de síntesis androgénica es la vía clásica. En la zona reticular de la corteza suprarrenal se produce la conversión de la pregnenolona en 17OH-pregnenolona y de progesterona en 17OH-progesterona mediante la hidroxilación en posición 17 α . La conversión de ambos esteroides en DHEA y androstendiona respectivamente, requiere la actividad 17,20-liasa. Ambas actividades enzimáticas son realizadas por una única proteína llamada P450c17. La androstendiona puede transformarse en testosterona, aunque la secreción suprarrenal de esta hormona es mínima en condiciones normales. Los andrógenos suprarrenales DHEA, DHEA-S y androstendiona tienen escasa actividad androgénica (considerados andrógenos “débiles”) y son transformados a nivel periférico por la 5 α -reductasa, en testosterona y 5 α -dihidrotestosterona (DHT), que son andrógenos más potentes.

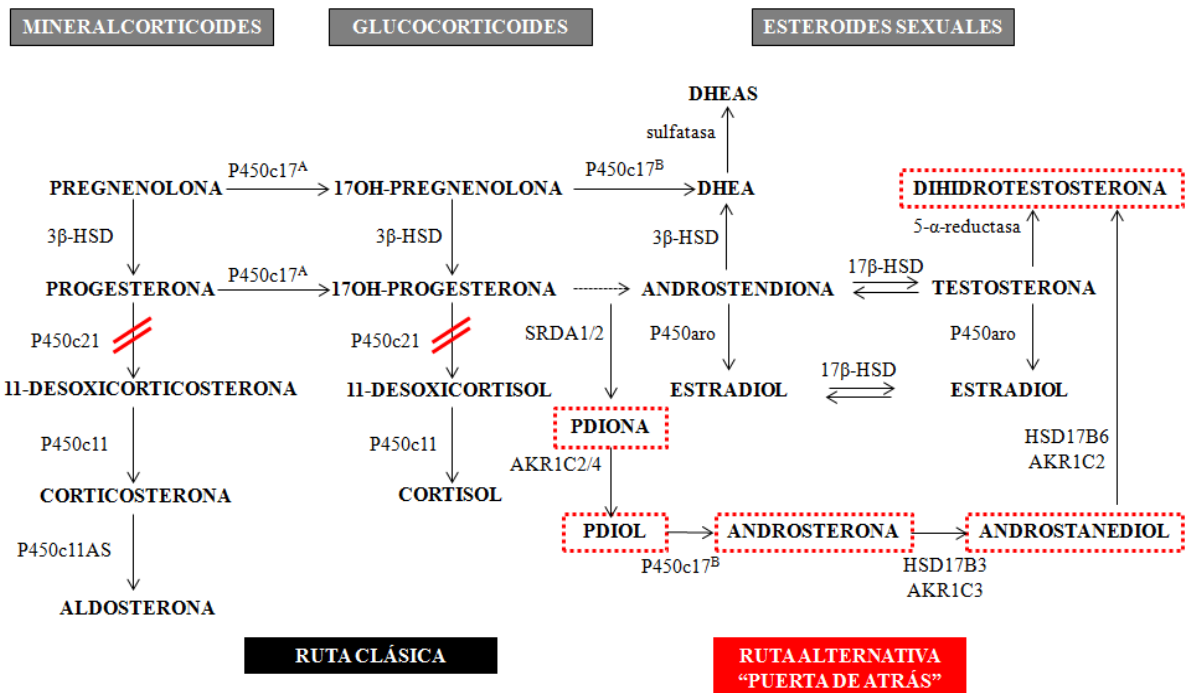


Figura 4. Esteroidogénesis suprarrenal. Vía clásica y vía alternativa de la síntesis de andrógenos suprarrenales.

Sin embargo, la 5 α -reducción de la testosterona, no es la única vía capaz de producir DHT. Existe una vía alternativa, conocida como “puerta de atrás” o “backdoor pathway” en la que se produce la conversión de la 17OH-progesterona en 5 α -pregnano-17 α -ol-3,20-diona (pdiona), mediada por la enzima 5 α -reductasa tipo 1 o 2 (SRDA1 o SRDA2)^{33,35-39}. Posteriormente, pdiona sufre una reducción a 5 α -pregnano-3 α ,17 α -diol-20-ona (pdiol) mediada por la enzima 3 α -hidroxiesteroide deshidrogenasa (HSD). La enzima P450c17 tiene gran afinidad por el pdiol, que se trata de un excelente sustrato para la actividad de la 17,20 liasa, dando lugar a la síntesis de androsterona. El pdiol es mejor sustrato para la P450c17

que la 17OH-progesterona e incluso que la 17OH-pregnenolona⁴⁰. Además, la 17OH-progesterona es superior a la testosterona como sustrato para la 5 α -reductasa (figura 4). Por todo ello, la “puerta de atrás” puede ser una ruta alternativa muy eficaz para la producción de DHT en situaciones de acumulación de 17OH-progesterona como ocurre en el caso de deficiencia de 21-hidroxilasa⁴¹.

1.2.2. Epidemiología

El déficit clásico de 21-hidroxilasa se produce en alrededor de 1 de cada 15.000-20.000 nacimientos en la mayoría de las poblaciones⁴²⁻⁴⁵. Aproximadamente el 75% de los afectados tienen la forma clásica con pérdida salina (1:13.300 recién nacidos vivos), mientras que el 25% tiene la forma virilizante simple del trastorno (1:40.000 recién nacidos vivos).

Las tasas son amplias con valores que dependen del área geográfica y de la etnia cribada: desde muy elevadas en dos poblaciones aisladas geográficamente, como los esquimales yupik de Alaska (1:280 nacimientos) y la isla francesa de La Reunión (1:2.100), elevadas en Arabia Saudí (1:1.500 nacimientos), en Brasil (1:7.500) y en Filipinas (1:7.000)⁴⁶ o bajas en Nueva Zelanda (1:21.270 nacimientos). En los Estados Unidos⁴⁷, la incidencia de 21OHD en afroamericanos es menor que en la población blanca (1:42.000 vs 1: 15.500), (hispanos > indios americanos > raza blanca > raza negra > asiáticos). La incidencia Europea reportada actualmente es de 1:16.000⁴⁸. Las cifras publicadas de prevalencia/incidencia del déficit clásico de 21-OH varían en función de si el diagnóstico se realiza por sospecha clínica o si fue por cribado neonatal.

La frecuencia de formas clásicas descrita por diferentes estudios realizados en España se estima entre 1:10.000- 1:14.000, lo que implica una frecuencia de portadores de mutación grave de 1:50-1:60 en población general, de ahí la importancia de realizar un adecuado consejo genético⁴⁹.

La enfermedad no clásica tiene una prevalencia de 1:1000 (frecuencia de portadores 1:15) en la población caucásica pero se produce con mayor frecuencia (1-2%) en grupos étnicos específicos como los judíos ashkenazi, los hispanos y los yugoeslavos⁵⁰.

1.2.3. Formas clínicas

Las manifestaciones clínicas de la deficiencia de 21-hidroxilasa incluyen un amplio espectro de síntomas dependiendo de la alteración genética existente y el grado de afectación de la enzima.

La enfermedad se divide en formas clásicas y no clásicas dependiendo de su gravedad. La forma clásica presenta a su vez dos formas dependiendo del grado de actividad enzimática que permita cierto grado de secreción de cortisol y aldosterona. Se divide la forma con pérdida salina y la forma virilizante simple.

1.2.3.a. Formas clásicas

La forma clásica constituye la forma clínica más frecuente.

Debido al déficit de glucocorticoides puede producirse una crisis adrenal que cursa con colapso circulatorio e hipoglucemia. El colapso circulatorio se debe al déficit de cortisol. La hipoglucemia aparece cuando los depósitos de glucocorticoides se deplecionan por alteración de la neoglucogénesis. Estas hipoglucemias pueden tener importantes secuelas neurológicas en caso de ausencia de tratamiento específico.

Las cantidades elevadas de andrógenos producidas por las suprarrenales afectadas son transformadas en testosterona por conversión periférica y después en dihidrotestosterona (DHT) por la 5-alfa-reductasa que está presente en el tubérculo genital. En el período crítico de la diferenciación de los órganos genitales externos, el rodete genital, muy sensible a la acción de la testosterona y a la DHT, hace que los fetos femeninos se virilicen. En varones, un exceso de andrógenos no presenta manifestación clínica llamativa y da lugar a una macrogenitosomía que puede escapar a veces al diagnóstico neonatal.

En las niñas, el grado de virilización varía desde una hipertrofia de clítoris aislada hasta una virilización completa con aspecto masculino de los genitales externos, fusión de labios mayores (estriados y pigmentados), y presencia de un seno urogenital con un solo orificio que es uretral y se sitúa en posición casi apical del botón genital. En cambio, no se palpan gónadas en estos labios mayores fusionados. Aunque en las formas más graves puede establecerse una asignación incorrecta de sexo como varón, el útero y los ovarios de estas niñas son normales. Las estructuras müllerianas, al no ser órganos diana para la acción androgénica se desarrollan normalmente, siendo consecuentemente normales el desarrollo del útero, trompas y dos tercios internos de la vagina. La vagina, según el grado de virilización, desemboca en el periné o en la uretra, formando así el seno urogenital. En las niñas, la ambigüedad de los genitales externos presenta grados variables que van desde una simple hipertrofia del clítoris hasta un fenotipo masculino con criptorquidia.

En la práctica, se utiliza la escala de Prader para clasificar el grado de virilización de los genitales.

Dentro de la forma clásica existen dos formas clínicas, una con pérdida salina y otra sin pérdida salina.

i. Con pérdida salina

Representa la forma más grave y la más frecuente de entre las formas clásicas (75% de los afectados). Esta forma presenta una actividad enzimática por debajo del 1%. El déficit de cortisol y aldosterona, y el exceso de andrógenos, existen desde el período embrionario. El cortisol no parece necesario para el desarrollo fetal, pero su déficit estimula la secreción de ACTH, provocando la hiperplasia de la suprarrenal y el hiperandrogenismo.

Durante el período fetal la placenta mantiene la homeostasis hidroelectrolítica en ausencia de aldosterona, pero tras el nacimiento, cuando se produce el aclaramiento de la aldosterona materna, generalmente entre los 7 y 14 días de vida, se manifiesta el síndrome de pérdida salina como un cuadro de anorexia, falta de ganancia ponderal, poliuria, decaimiento con vómitos y/o diarrea⁴⁶. Estas manifestaciones podrían no ser evidentes hasta que las concentraciones de sodio sérico bajan de 125 mEq/L. Si no se reconoce el cuadro y no se instaura el tratamiento oportuno, puede evolucionar en poco tiempo a un cuadro severo de deshidratación hipotónica, shock hipovolémico y muerte. Analíticamente se caracteriza por acidosis metabólica hiponatémica e hiperpotasémica, disminución de aldosterona, elevada actividad de renina plasmática (ARP) con cociente ARP/aldosterona elevado.

El síndrome de pérdida salina es el resultado de dos mecanismos diferentes. En primer lugar, existe una deficiente secreción de mineralcorticoides, particularmente aldosterona. En segundo y menos importante, los niveles elevados de los precursores hormonales previos al déficit enzimático, particularmente los altos niveles circulantes de 17-hidroxiprogesterona actúan en el túbulo renal inmaduro del recién nacido como antagonistas de los mineralcorticoides, inhibiendo la acción de aquellos que hayan podido sintetizarse. El déficit en la síntesis de mineralcorticoides tiende a hacerse menos intenso con la edad. El mecanismo inhibitorio de la acción mineralcorticoide en el túbulo renal secundario a la 17-hidroxiprogesterona tiende también a mejorar al madurar la función renal del recién nacido con la edad. Por esta razón las necesidades de mineralcorticoides y suplementos salinos con el tiempo disminuyen⁵¹.

La deficiencia grave de cortisol exacerba los efectos sistémicos de la falta de aldosterona porque los glucocorticoides contribuyen a la contractilidad cardíaca, gasto cardíaco y regulación de la respuesta vascular a las catecolaminas. En ausencia de

glucocorticoides estos efectos no se producen, disminuye el gasto cardíaco, el filtrado glomerular y la capacidad para excretar agua libre. Además el déficit de cortisol puede ocasionar hipoglucemia y una respuesta limitada a las catecolaminas, agravando la crisis adrenal. Desafortunadamente, la forma pérdida de sal conlleva un índice importante de mortalidad en los neonatos, sobre todo en el sexo masculino debido a la ausencia de signos clínicos al nacer.

El hiperandrogenismo es la causa de la virilización de los genitales externos del feto femenino, permaneciendo normales las gónadas y los genitales internos. El grado de virilización no guarda relación con el grado de severidad de la pérdida salina.

En el feto masculino no se afectan los genitales, ya que la producción gonadal de testosterona supera ampliamente a la derivada de los precursores adrenales y la virilización sigue su curso normal.

La enfermedad en las niñas se puede detectar al nacer por la ambigüedad genital, pero en los varones puede pasar desapercibida por no presentar alteraciones genitales, pudiendo tener consecuencias letales. Estas crisis aparecen habitualmente cuando el recién nacido ya está en su domicilio, siendo los varones afectados los que presentan un mayor riesgo al no suscitar sospecha por no presentar genitales ambiguos.

ii. Sin pérdida salina o virilizante simple

Se presenta en el 25% de los casos de déficit clásico de 21-hidroxilasa. Es la forma moderada-grave de la enfermedad. La actividad enzimática se sitúa por debajo del 10% (al menos un 2%) permitiendo que la mutación de la 21-OH produzca la cantidad de cortisol y aldosterona suficiente como para no desarrollar un síndrome pierde sal clínico. Se caracteriza por un déficit en la síntesis de cortisol y un exceso en la producción de andrógenos suprarrenales desde la época fetal. Se produce una cantidad casi normal de aldosterona que permite mantener la homeostasis electrolítica, a pesar de que los niveles de renina pueden estar elevados lo que manifiesta la existencia del bloqueo enzimático.

Estos pacientes presentarán una virilización más o menos severa pero sin signos clínicos de pérdida salina.

En el período postnatal, las niñas son identificadas precozmente por la virilización de los genitales externos, pero los niños y las niñas con una virilización más leve de los genitales externos suelen diagnosticarse más tardíamente, en la infancia, cuando se ponen de manifiesto los signos de hiperandrogenismo (aparición precoz de vello púbico, vello axilar,

pene alargado, así como aceleración de la velocidad de crecimiento). Las niñas muy virilizadas pueden ser erróneamente identificadas como varones con criptorquidia al nacer.

Tras el período neonatal, sin tratamiento la incesante secreción en exceso de andrógenos suprarrenales causan un aumento progresivo del pene o hipertrofia del clítoris, una pubarquia precoz, axilarquia, aumento del olor corporal apocrino, acné severo, un aumento del desarrollo muscular y un crecimiento somático precoz con fusión epifisaria temprana, lo que da lugar a una estatura final baja. En ocasiones puede aparecer un cuadro de pubertad precoz central asociado por privación androgénica hipotálamo-hipofisaria, que hace que se active el eje hipotálamo-hipofiso-gonadal.

En las niñas, un mal control de la enfermedad puede dar lugar a disfunción ovárica⁵². La mayoría de las mujeres con 21OHD tienen la menarquia a una edad normal, aunque presentan en la edad adulta oligomenorrea y disminución de la fertilidad⁵³⁻⁵⁶. Los factores que pueden contribuir a una menor fertilidad son factores hormonales (inadecuado control del hiperandrogenismo que induce ciclos anovulatorios, alteración del eje hipotálamo-hipofiso-ovárico, ovario poliquístico, excesiva producción ovárica de andrógenos y activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona), factores anatómicos (introito inadecuado o alteraciones referidas al tratamiento quirúrgico) y factores psicológicos⁵⁷⁻⁶⁰.

La forma virilizante simple se manifiesta en los niños a través de la aparición a la edad de 2-4 años de vello púbico y del crecimiento del pene sin aumento de volumen testicular, asociados a aceleración de la velocidad de crecimiento y de la maduración ósea. Este cuadro clínico se debe al aumento de la secreción de andrógenos por la glándula suprarrenal. El niño afectado presenta al nacimiento una virilización normal y el diagnóstico precoz es difícil de establecer sin cribado.

1.2.3.b. Forma no clásica o tardía

Esta forma no clásica o de comienzo tardío de HSC debida 21OHD es la forma más leve de la enfermedad en la que pueden existir pacientes completamente asintomáticos. La virilización se inicia en la segunda infancia o edades peri o pospuberales. La actividad enzimática se sitúa entre el 20-50% y los síntomas clínicos son variables y se pueden presentar a cualquier edad, incluso tan temprano como a los 6 meses de vida.

Las formas no clásicas de HSC por 21OHD no condicionan un déficit de cortisol pero sí el aumento en la producción de los metabolitos previos a la actuación del enzima. En estas

formas no clásicas no se produce virilización de los genitales externos femeninos, ni se produce pérdida de sal, ya que no hay deficiencias en la síntesis de aldosterona.

La forma no clásica sintomática en mujeres, se caracteriza por la aparición tardía de síntomas hiperandrogénicos en la infancia, la pubertad o la vida adulta. La mayoría de las veces los síntomas de hiperandrogenismo aparecen peripuberalmente, coincidentes con el inicio de la adrenarquia. En la adrenarquia aumenta la actividad 17,20-liasa y, posiblemente, disminuye la 3-beta-hidroxiesteroide-dehidrogenasa, lo que favorece la producción suprarrenal de andrógenos. Si existe una deficiencia hereditaria de la 21-OH, la secreción peripuberal suprarrenal de andrógenos puede ser excesiva.

Una pubarquia precoz, un crecimiento lineal acelerado y una edad ósea avanzada se dan en la infancia en ambos sexos pero con menor gravedad que la que se observa en la forma clásica. Otros síntomas son: hirsutismo, acné cístico, alteraciones en la menstruación y ovario poliquístico en las mujeres, patrón masculino de calvicie e infertilidad⁶¹. En las mujeres, la ambigüedad genital no está presente en el nacimiento, pero, a veces puede aparecer una leve clitoromegalia. En los varones, a veces se diagnostica una disminución de la fertilidad, aunque la mayoría de los varones son asintomáticos⁶².

Estos casos no son objeto del programa de cribado neonatal, dado que se trata de formas leves, detectables clínicamente y sin un grave compromiso para la salud.

1.2.3.c. Forma críptica o asintomática

La forma asintomática presenta una reducción de la actividad enzimática similar a la forma sintomática, pero los signos hiperandrogénicos no están presentes. Estos pacientes pueden presentar alteraciones bioquímicas y genético-moleculares similares a las de los sujetos afectados por formas no clásicas sintomáticas pero sin manifestaciones clínicas.

El seguimiento longitudinal de estos casos, generalmente detectados como parte de un estudio familiar, o en programas de detección temprana, a menudo muestra que los signos de hiperandrogenismo aparecen posteriormente.

1.2.3.d. Portadores

Son aquellos pacientes con mutación en un solo alelo. Son detectados generalmente en el estudio de familiares afectados o por signos de hiperandrogenismo.

1.2.4. Diagnóstico

1.2.4.a. Sospecha clínica

El diagnóstico se realizará por la sospecha clínica y se confirmará mediante la determinación de los niveles plasmáticos de 17-hidroxiprogesterona (17-OHP), sea en condiciones basales o tras estímulo con ACTH.

Durante el período neonatal en la forma clásica el diagnóstico se sospecha por la presencia de un síndrome de pérdida salina en los niños y en las niñas y/o por la presencia de genitales ambiguos en un recién nacido genéticamente mujer. En algunos casos, además, se sospecha por pertenecer a un grupo de riesgo, es decir, ser hermano o hijo de un o una paciente afecta. El diagnóstico se confirma mediante la determinación en condiciones basales de los niveles de 17-OHP.

En las formas clásicas se encuentran generalmente valores de 17-OHP por encima de 20 ng/ml, por lo que no es necesario realizar test de ACTH. Valores de 30-500 ng/ml ya son diagnósticos. Los recién nacidos con estrés o los prematuros, sobre todo si son menores de 30 semanas de edad gestacional, pueden tener valores elevados de 17-OHP, pero raramente exceden los 20 ng/ml a las 24 horas de vida. Se debe a una disminución de la actividad de la 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa y de 11- β deshidrogenasa que justifica la elevación de estos metabolitos con normalización espontánea en su evolución^{63,64}.

La interpretación de los resultados debe tener en cuenta la edad gestacional y cronológica del niño en el momento de la extracción, ya que la 17-OHP está normalmente elevada al nacimiento, disminuyendo rápidamente tras el 2º día de vida. El diagnóstico no debe hacerse en sangre de cordón porque las tasas de 17-OHP están elevadas, generalmente entre 10 y 30 ng/ml, y reflejan en más del 80% las concentraciones maternas. Durante el período neonatal no es necesario realizar el test de ACTH, ya que los valores de 17-OHP suelen estar francamente elevados y una hiperestimulación con ACTH podría producir mayor aumento de la 17-OHP y desencadenar una crisis de pérdida salina al competir en el túbulo renal con la aldosterona.

Igualmente existe una elevación de la ACTH, androstendiona y testosterona, así como de los metabolitos urinarios de los andrógenos suprarrenales; en este sentido un gran número de esteroides urinarios pueden ser utilizados como indicadores de la existencia de un déficit de la 21-OH. El pregnanetriol urinario (PT) es un metabolito urinario de 17-OHP que puede ser útil para el diagnóstico. Sin embargo, puede estar aumentado también en las formas

transitorias de elevación de 17 hidroxiprogesterona y en los prematuros, lo que le resta utilidad en el diagnóstico⁶⁵. En la forma pierde sal, los valores plasmáticos de aldosterona pueden ser erróneamente normales, por interferencia de otros metabolitos en la técnica de medición. La actividad de renina plasmática estará elevada (>50 ng/ml/h). Los valores de referencia de renina plasmática varían con la edad; en los primeros 6 días de vida se consideran normales valores: 8.83 ± 8.67 ng/ml/h y de los 7 a los 27 días de vida: 7.40 ± 3.74 ng/ml/h⁶⁶. Normalmente la ACTH estará aumentada y el cortisol disminuido.

En los casos en los que se sospeche virilización de genitales externos femeninos, es necesaria la realización del cariotipo.

La crisis adrenal y la pérdida salina requieren la determinación de iones (Na^+ y K^+), un equilibrio ácido-base en plasma y bioquímica con función renal y glucemia. En esta situación aparece hiponatremia, hiperpotasemia, acidosis metabólica y aumento de la natriuresis. Valores de sodio inferiores a 130 mEq/L y/o de potasio superiores a 6 mEq/L obligan al ingreso y tratamiento hospitalario urgentes.

Las catecolaminas (adrenalina) están disminuidas en pacientes con formas graves con descompensaciones frecuentes³⁴.

El diagnóstico de la forma no clásica ha sido establecido conforme a los niveles basales de 17-OHP superiores a 5 ng/ml, en la fase folicular del ciclo menstrual. Los niveles basales de 17-OHP pueden no diferir de los valores normales, pero suelen estar elevados durante el pico diurno de producción de cortisol, por lo que los valores de la primera hora de la mañana suelen ser los más informativos. Excluyendo el período neonatal, se consideran normales valores basales inferiores a 2-3 ng/ml. Con la presentación de niveles de 17-OHP inferiores a 5 ng/ml pero en presencia de síntomas hiperandrogénicos, se aconseja realizar un test de estimulación con ACTH endovenoso (0.25 mg de Synacthen iv) con extracción basal y a los 60 minutos post-ACTH de la 17-OHP plasmática. Se considera respuesta normal valores de 17-OHP a los 60 min <10 ng/ml⁶⁷⁻⁶⁹. La prueba de ACTH es recomendable incluso con valores normales de 17-OHP, ya que hasta en un 10% de casos no clásicos, los niveles basales de 17-OHP eran inferiores a 2 ng/ml⁷⁰. Asimismo, se recomienda la realización del test de ACTH a los familiares de cualquier paciente afecto de forma clásica o no clásica para detectar formas crípticas.

1.2.4.b. Cribado neonatal

El origen de los Programas de Cribado Neonatal (PCN) se sitúa en los años sesenta cuando Guthrie descubre que la fenilcetonuria puede detectarse precozmente, midiendo los valores de fenilalanina en sangre del recién nacido (RN), utilizando como muestra sangre impregnada en papel. Esto hizo posible su potencial aplicación a un gran número de metabolopatías⁷¹.

En España el primer programa de detección precoz de metabolopatías congénitas se puso en marcha en la Universidad de Granada en el año 1968.

En 1968 Wilson y Jungner⁷² establecieron una serie de principios, que es preciso tener en cuenta para que una enfermedad sea objeto de cribado neonatal. A pesar de que han pasado más de 30 años, siguen siendo aceptados en la actualidad. Estos principios son:

1. La enfermedad que se trata de detectar debe ser un problema importante de salud pública, y así debe percibirlo la población que va a ser objeto de cribado. La enfermedad debe tener consecuencias graves tanto para el individuo como para la comunidad.
2. Debe existir un tratamiento aceptado en los pacientes en los que se identifica la enfermedad.
3. Es preciso disponer de servicios de diagnóstico y tratamiento. Debe existir la posibilidad de administrar el tratamiento a todas las personas que lo requieran.
4. La enfermedad debe tener una fase de latencia identificable o de síntomas incipientes. Ha de existir un período razonable en la evolución natural de la enfermedad durante el cual no están presentes los síntomas.
5. Debe disponerse de una prueba o examen apropiado. La prueba debe efectuarse con facilidad y rapidez, aunque tenga un mayor margen de error y no sea tan exacta como la prueba diagnóstica de referencia.
6. La prueba debe ser aceptable para la población. La aceptabilidad está relacionada con la seguridad de la misma y con la eficacia con la que se transmita la información a la población con respecto al programa de cribado.
7. Es necesario conocer debidamente el ciclo natural de la enfermedad, inclusive la evolución desde la fase de latencia o de síntomas incipientes.

8. Se debe de establecer una norma sobre las personas que deben tratarse como enfermos. Debe seguirse una política claramente definida respecto a los sujetos “dudosos”.
9. El coste del programa de localización de casos (incluido el diagnóstico y el tratamiento de los pacientes diagnosticados), debe estar económicamente equilibrado en relación con los posibles gastos totales del sistema sanitario.
10. La localización de casos debe constituir un proceso continuo y no un proyecto de “una sola vez”.

Además de los principios anteriormente citados, es necesario tener en cuenta los siguientes aspectos relacionados con la prueba de cribado:

- Validez: es equivalente al grado o la frecuencia con que los resultados de la prueba son confirmados por los exámenes diagnósticos posteriores. Debe escogerse una prueba muy sensible cuando existe un grave perjuicio para el sujeto si no se detecta la enfermedad, y una muy específica cuando los resultados falsos positivos puedan causar un daño físico, emocional o financiero al paciente sometido a cribado.
- Fiabilidad (reproducibilidad): el resultado de una prueba de cribado es fiable cuando es estable, es decir, cuando su repetición bajo las mismas condiciones ofrece los mismos resultados.

La detección precoz de HSC 21OHD se inició por Sonia Pang y María New en 1977⁷³. La primera serie demostró la elevada incidencia en población de Alaska (1:280) y en la Isla Francesa de la Reunión (1:2.100), en familias consanguíneas.

El Programa de Cribado en la Comunidad de Madrid se inició en el año 1990. Los objetivos del PCN de 21OHD son:

1. Anticiparse a la aparición de una crisis de pérdida salina grave y potencialmente mortal.
2. Evitar la incorrecta asignación de sexo en una niña con genitales externos virilizados.
3. Diagnosticar precozmente la forma virilizante simple para evitar la hiperandrogenización durante la infancia.
4. La detección precoz de las formas no clásicas no es el objetivo del programa pero en ocasiones pueden beneficiarse de un tratamiento precoz.

La detección precoz de 21OHD^{44,74} se basa en la medición de 17-OHP sobre la muestra de sangre seca, extraída a las 48 horas de vida del recién nacido. Los valores de normalidad varían para cada laboratorio en función de la técnica utilizada para su determinación.

Para las determinaciones analíticas del cribado neonatal de la HSC se puede utilizar: radioinmunoanálisis (RIA), enzimoimmunoanálisis (ELISA) o fluoroinmunoanálisis (FIA).

En los últimos años se están desarrollando nuevas técnicas de análisis de la muestra, entre las que destacan las de biología molecular y la espectrometría de masas en tándem, que permiten la detección de numerosos metabolitos en una única muestra de sangre, incrementando las posibilidades diagnósticas de algunas enfermedades como las aminoacidopatías, las acidurias orgánicas y los defectos de la betaoxidación.

En España, los centros que realizan el cribado neonatal de la 21OHD usan técnicas de fluoroinmunoanálisis, en concreto la inmunofluorescencia de tiempo retardado en un proceso automatizado (DELFI[®]). Se trata de una técnica sencilla y de bajo coste. Basados en los consensos internacionales y considerando la metodología actual disponible el punto de corte de 17-OHP, por encima del cual existe sospecha de padecer la enfermedad, está establecido en el valor de 17-OHP correspondiente al percentil 98. Se ha observado una alta tasa de falsos positivos, especialmente entre los niños prematuros^{75,76}, por lo que es imprescindible ajustar los puntos de corte de los niveles de 17-OHP de acuerdo a las semanas de gestación, peso y sexo del recién nacido⁷⁷⁻⁸⁴. Los resultados se valoran según edad gestacional^{64,85} más que por el peso al nacimiento. Cada laboratorio debe establecer cuáles son sus valores de normalidad y percentiles.

En los casos positivos, deberá realizarse posteriormente una confirmación diagnóstica según protocolos actualizados (anamnesis, exploración física, muestra de 17-OHP en sangre venosa)^{86,87}.

El número de muertes potencialmente evitables con el programa de cribado neonatal HSC 21OHD es muy variable, hasta un 10% según las series, siendo difícil de estimar^{88,89}. En cualquier caso, niños varones con el fenotipo pierde sal tienen más probabilidades de sufrir un retraso en el diagnóstico, ya que pueden pasar desapercibidos en la primera exploración física.

La detección precoz de esta enfermedad se realiza en el marco de programas de cribado neonatal en múltiples países incluyendo muchos estados de Estados Unidos, Nueva

Zelanda, Japón, Israel, Suecia, Suiza, Francia, Austria, y Holanda⁹⁰. Además, la Sociedad Europea de Endocrinología Pediátrica y la Sociedad Americana de Endocrinología Pediátrica (Lawson-Wilkins) recomiendan su inclusión⁹¹. En España el cribado neonatal de la 21OHD ya se realiza en las Comunidades de Aragón, Castilla y León, Castilla-La Mancha, Extremadura, Madrid y la Rioja. La incidencia de las formas clásicas detectada en España desde 1988 hasta el 2013 es de 1:21.790⁹².

1.2.5. Genética

La HSC por 21OHD es una enfermedad monogénica de herencia autosómica recesiva.

El gen estructural de la enzima 21-hidroxilasa se denomina CYP21A2 o P45021 (antes denominado CYP21B). Es un citocromo P450 que convierte 17-OHP en 11-deoxicortisol y la progesterona en 11-deoxicortisol y la progesterona en DOC (figura 5).

Este gen se encuentra localizado en el brazo corto del cromosoma 6 (6p21.3), en la región III del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA), entre los loci del HLA-B y del HLA-DR (figura 6). Muy próximo a él, a una distancia de 30 Kb, se encuentra su pseudogen (o gen no funcional), CYP21A1P o CYP21A. Ambos genes están dispuestos en tándem alternándose con los genes C4A y C4B (figura 6) que codifican para el cuarto componente del complemento y también presentan una homología importante.

El CYP21A2 es el gen activo, mientras que el pseudogen CYP21A presenta una serie de mutaciones que impiden su expresión y/o funcionalidad. Ambos genes presentan 98% de homología en las secuencias de exones y 96% en las de intrones⁹³⁻⁹⁵.

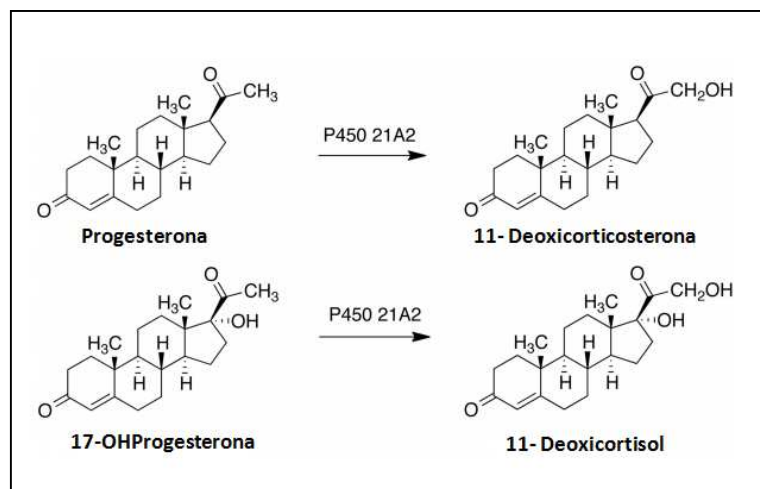


Figura 5. Reacciones catalizadas por P450 21A2

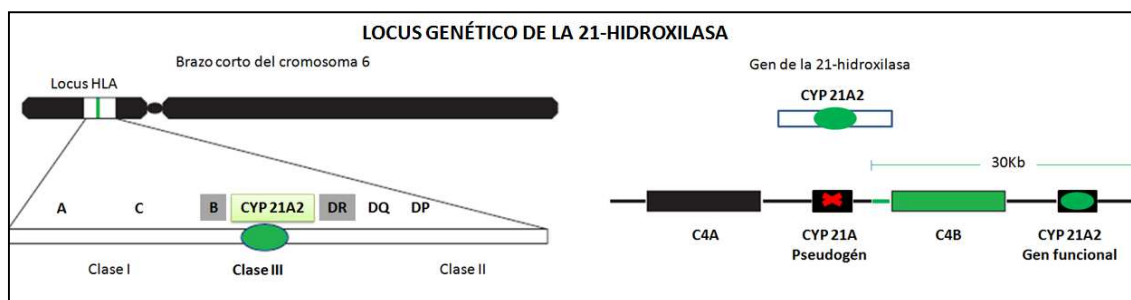


Figura 6. Esquema del cromosoma 6 humano, en que se indica la localización del gen de la esteroide 21-hidroxilasa en el locus HLA y esquema del locus de la 21-OH; CYP21A2 en el gen funcional, CYP21A en humanos es un pseudogen.

El gen funcional CYP21A2 tiene un tamaño de 3,2 Kb y está constituido por 10 exones, dando lugar a un mRNA de aproximadamente 2 Kb. La proteína tiene 500 aminoácidos y contiene un grupo prostético el grupo HEM. Es una monooxigenasa de esteroides en posición 21, que se localiza en la membrana microsomal. Son dominios importantes para su funcionalidad la región de anclaje a la membrana del microsoma y la región de centro activo donde se unen los sustratos, 17-OHP y progesterona, así como las regiones de interacción con los enzimas auxiliares o zonas de transferencia de electrones y protones.

CYP21A2 se expresa en el tejido suprarrenal dando lugar al enzima específico. También se ha detectado expresión en linfocitos, así como actividad 21 hidroxilante inespecífica, que podría compensar parcialmente la deficiencia suprarrenal severa en el adulto^{96,97}.

La gran mayoría de las mutaciones que causan deficiencia de 21-OH son el resultado de 2 tipos de mecanismos entre el gen *CYP21A2* y el pseudogen *CYP21A*: a) una recombinación asimétrica durante la meiosis (duplicación, delección) y b) fenómenos de conversión génica por el que se transfieren mutaciones deletéreas presentes en el pseudogen *CYP21A* al gen *CYP21A2* (figura 7). Cuando se trata de mutaciones puntuales se las denomina microconversiones, para diferenciarlas de las conversiones grandes que involucran a varios exones o a la totalidad del gen.

Las delecciones de CYP21A2 ocurren debido a un entrecruzamiento desigual que genera un locus C4B/CYP21A2 duplicado y uno eliminado. La conversión génica también sucede debido a un emparejamiento desigual entre los genes CYP21. Se produce una sustitución de una hebra de ADN del gen activo por otra del pseudogen y, consecuentemente, se origina una transferencia de secuencias mutadas al gen activo. Los puntos de ruptura son

diversos, localizándose entre los exones 3 y 4 en aproximadamente un 50% de los alelos con delección en nuestra población (figura 8).

Las mutaciones genéticas de 21-hidroxilasa pueden presentar diferentes frecuencias dependiendo de la raza. Las delecciones de CYP21A2 y las grandes conversiones se encuentran fundamentalmente en pacientes con forma clásica y se identifica, aproximadamente de un 20 a un 33% de los alelos afectados entre caucásicos⁹⁸⁻¹⁰⁰. Una frecuencia inferior se aprecia entre los latinoamericanos^{101,102}.

El resto de los alelos afectados, en los que no se identificaron grandes reordenamientos, tienen mutaciones puntuales. Hoy en día, se han descrito más de 100 mutaciones (www.hgmd.cf.ac.uk).

Las mutaciones que no se originan en el pseudogen representan mutaciones puntuales ocasionales y suele aparecer en casos aislados.

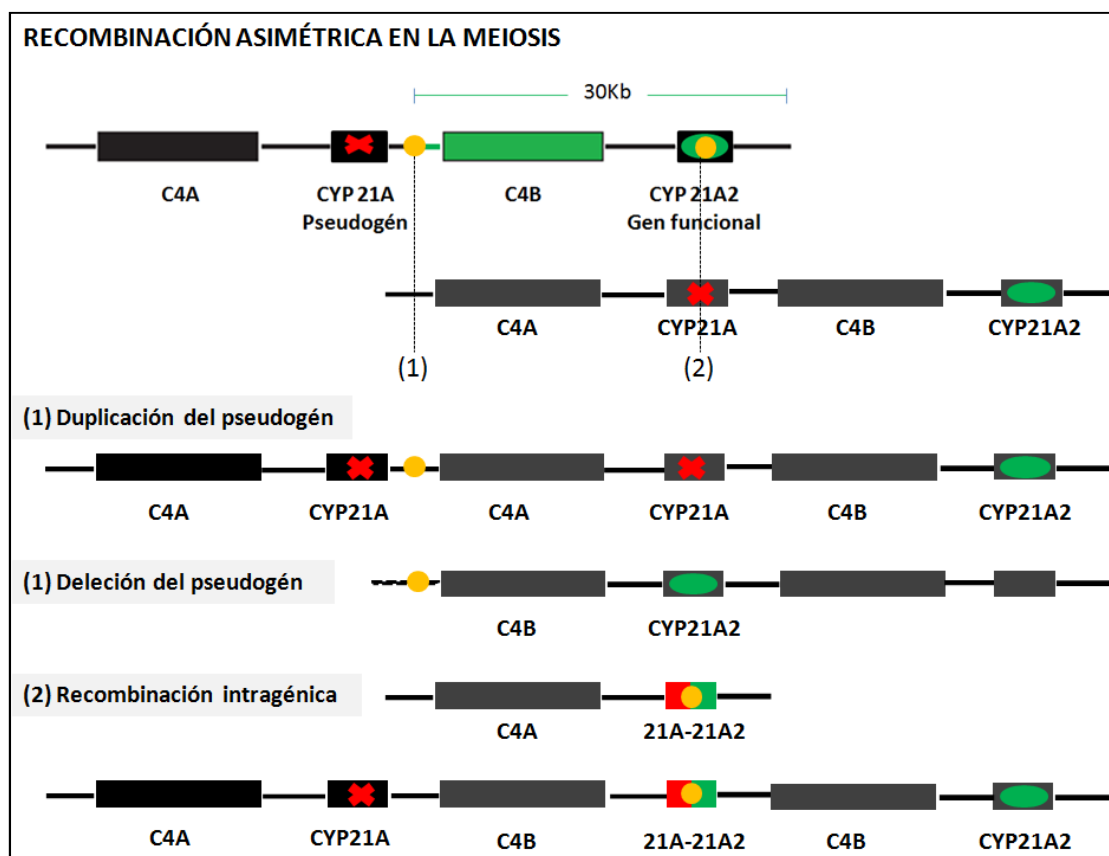


Figura 7. Esquema de la recombinación asimétrica y de las duplicaciones y delecciones del gen. Los puntos 1 y 2 son los puntos de recombinación que dan lugar a estas entidades. La recombinación por delante de C4A (punto 1) da las delecciones y duplicaciones del pseudogén que mantienen en su estructura un gen funcional. La recombinación intragénica (punto 2) da lugar a un híbrido pseudogén-gen no funcional.

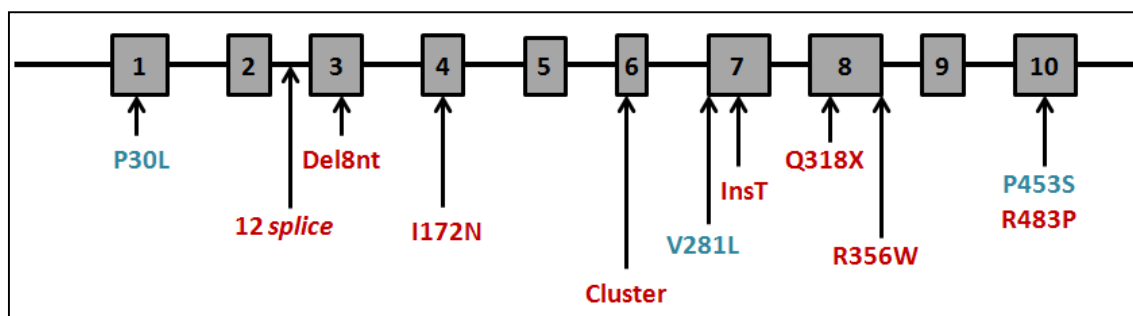


Figura 8. Esquema del gen 21-OH con sus diez exones o zonas codificantes y regiones intrónicas. Se indican las mutaciones puntuales que existen en el pseudogen de la 21-OH y por conversión génica pueden transferirse a CYP21A2 haciéndolo no funcional. Estas mutaciones puntuales se denominan microconversiones para diferenciarlas de las conversiones grandes que involucran a varios exones o a la totalidad del gen. Las mutaciones indicadas en color rojo, afectan de forma severa a la enzima y se encuentran sobre todo en las formas clásicas por déficit de 21-OH. Las indicadas en azul, dan lugar a una afectación moderada la actividad enzimática y se asocian a formas leves o tardías de la deficiencia.

En la 21OHD, las mutaciones que crean un codón de parada prematuro o cambian sitios de procesamiento del ARN mensajero o alteran la pauta de lectura, están asociadas con la forma de pérdida salina. Por otro lado, las mutaciones de cambio de sentido, dependiendo del aminoácido que esté afectado, están asociadas a las tres formas clínicas. La mutación más frecuente en la forma de pérdida salina es la *12 splice*, en la forma virilizante simple la I172N y en la forma no clásica es la V281L.

Todas las mutaciones descritas en el pseudogen (tabla 1), se encuentran en los exones o zonas codificantes, excepto la mutación *12 splice* que se localiza en el intrón 2 y afecta al procesamiento del RNA mensajero.

Las mutaciones específicas en el gen dan lugar a una pérdida de la actividad enzimática de la esteroide 21-OH más o menos severa, que según su grado se puede correlacionar con las distintas formas clínicas. Estudios funcionales in vitro han evaluado el deterioro de la actividad enzimática provocada por las mutaciones (tabla 1), dividiéndolas después en grupos según su actividad residual y asociándolas con formas clínicas^{103,104}. El grupo A incluye mutaciones que reducen total o casi totalmente (<2%) la actividad enzimática y que se correlacionan con la forma de pérdida salina: deleción de CYP21A2, conversión génica, *12 splice*, Del8nt, cluster en exón 6, InsT, Q318X, R356W y R438P. Todas están relacionadas con la forma de pérdida de sal. El grupo B incluye la mutación I172N que codifica una enzima con la actividad residual enzimática alrededor del 3 y el 7%, y se relaciona con la forma de virilización simple. El grupo C incluye mutaciones como V281L, P453S y P30L, que predicen una actividad enzimática residual entre un 20 y un 60%. Estas últimas mutaciones están relacionadas con la forma no clásica. La mayoría de los pacientes con 21OHD son heterocigotos compuestos. La forma clínica se asocia con el alelo que presenta una actividad enzimática residual más alta^{99,100,105,106}.

El peculiar mecanismo de producción de mutaciones en el gen CYP21A2 hace que el estudio de un número limitado de mutaciones (deleciones, grandes conversiones y las 10 microconversiones más frecuentes) permita caracterizar un elevado porcentaje de alelos^{95,106}. En la población española ello supondría aproximadamente el 75% de las formas no clásicas y el 90% de las formas clásicas de acuerdo con estudios de *Ezquieta et al*^{100,107-109}. El estudio de las mutaciones más frecuentes permite caracterizar la gran mayoría de alelos mutados pero no su totalidad por lo que en ocasiones se debe recurrir a la secuenciación completa del gen.

Mutación	Exón/Intrón CYP21A2	Actividad residual (%)	Forma clínica	Grupo clínico
P30L Pro30Leu	Exón 1	30-60	NC	C
12 splice 655G	Intrón 2	<2	PS	A
Del8nt Delecion de 8 pb	Exón 3	0	PS	A
I172N Ile172Asn	Exón 4	3-7	VS	B
Cluster Ile236Asn/Val237Glu/Met239Lys	Exón 6	0	PS	A
V281L Val281Leu	Exón 7	20-50	NC	C
InsT 306InsT	Exón 7	0	PS	A
Q318X 318Stop	Exón 8	0	PS	A
R356W Arg356Trp	Exón 8	2	PS/VS	A
P453S Pro453Ser	Exón 10	20-50	NC	C
R483P Arg483Pro	Exón 10	1-2	PS	A

Tabla 1. Mutaciones puntuales más frecuentes que se originan por conversión génica entre CYP21A2 y su pseudogen. PS: pérdida salina, VS: virilizante simple, NC: no clásica. Del: eliminación, Ins: inserción, (%): in vitro actividad según estudio in vitro anteriores⁵⁷

Las deleciones y conversiones grandes del gen son también alteraciones recurrentes, siempre de tipo grave, que también deben ser analizadas. Algunas de las mutaciones puntuales mencionadas pueden encontrarse en alelos que presentan algún tipo de reordenamiento que puede modificar su severidad, por lo que hacen imprescindible que su estudio no se limite exclusivamente a su detección como tal variante puntual como son: la

p.Pro30Leu que cuando asocia la conversión en 5' es un alelo moderadamente severo¹¹⁰, la p.Gln318Stop que cuando se encuentra en alelos que presentan duplicación del gen funcional son variantes de la normalidad que raramente encontramos en pacientes pero que no son infrecuentes en cromosomas normales¹¹¹. Por ser una enfermedad autosómica recesiva la gravedad de las manifestaciones clínicas será determinada por la mutación que afecte menos a la actividad enzimática.

En la 21OHD, los enfermos frecuentemente son “heterocigotos compuestos”, es decir, presentan mutaciones distintas en los dos cromosomas. El término “heterocigoto” sin más se reserva para los individuos que presentan un cromosoma normal y uno mutado (portadores). Sólo en el caso de mutaciones frecuentes, y por supuesto, en el caso de consanguinidad se han encontrado enfermos “homocigotos”, es decir, presentan una misma alteración en los dos alelos mutados. En caso de mutaciones en “homocigosis” la correlación genotípica-fenotípica se ha descrito cercana al 100%, pero la capacidad de predicción del fenotipo es menor cuando hay una mutación diferente en cada alelo.

En la 21OHD existe una buena correlación entre genotipo y fenotipo^{99,105,106,112} sin embargo, no siempre se puede establecer una correlación perfecta entre ambos, ya que algunas mutaciones se han asociado con más de un fenotipo y no todos los estudios encuentran el mismo grado de correlación^{113,114}. Se han descrito pacientes con formas clínicas menos graves que las esperadas por el genotipo, como la forma virilizante simple en pacientes con delección de CYP21A2 en homocigosis, se sugiere la presencia de actividad de 21-hidroxilación extraadrenal. Sin embargo, se desconocen las enzimas y los tejidos que participan en esta actividad^{57,115}.

A pesar de las discrepancias entre genotipo y fenotipo, anteriormente mencionadas, el estudio de mutaciones en la 21OHD se utiliza mucho en la práctica clínica, por ejemplo, para efectuar el diagnóstico diferencial en los varones, entre formas de virilización simple y no clásica, en el cribado neonatal para diferenciar resultados positivos de elevaciones transitorias de 17-OHP y en el diagnóstico prenatal de embarazos de riesgo.

La importancia de realizar un diagnóstico genético-molecular radica en que la repercusión de estas mutaciones sobre la actividad enzimática es proporcional a su repercusión sobre la severidad clínica. La manera más simple de correlacionar el genotipo con el fenotipo es determinar qué tipo de mutación aparece en el paciente afecto de 21OHD. Ello se ha mostrado informativo para la mayoría de las mutaciones.

El estudio conjunto de deleciones, conversiones y microconversiones permite la caracterización del 93% de los alelos en las formas clásicas (un 95% con pérdida salina y un 91% virilizantes simples) y el 85% de los alelos de formas no clásicas en nuestra población.

La información que deriva del estudio molecular es elevada y únicamente en un 5-8% de los pacientes con formas clásicas, este cribado permite la caracterización de un único alelo. Si se ha excluido la consanguinidad, es muy infrecuente (<1%) que no sea caracterizado ninguno de los alelos en una forma clásica. En estos casos, se reevaluaría el caso, con el análisis indirecto mediante microsatélites. El tipaje HLA para el análisis indirecto del gen 21-OH ha sido desplazado por los microsatélites y polimorfismos intragénicos y aunque se disponga de informatividad completa en el análisis directo, debe ser aplicado ya que permite evitar los problemas de la falta de amplificación de alelos, detectar posible contaminación de tejido materno, y el estudio de alelos con reordenaciones grandes. El análisis indirecto es muy útil para el diagnóstico prenatal pero con fines diagnósticos y la detección de portadores requiere el análisis directo.

En la 21OHD se hace imprescindible el establecimiento de la segregación de alelos, y es la documentación de dos mutaciones segregadas la que dará el diagnóstico. No son infrecuentes los alelos con dobles mutaciones puntuales o pequeñas conversiones que afecten a dos mutaciones consecutivas.

1.2.6. Tratamiento

El principio básico del tratamiento de las formas clásicas debe ser dirigido específicamente hacia la causa desencadenante del problema. De este modo, el trastorno fundamental es la deficiencia de cortisol y el incremento en la secreción de ACTH, que estimula la producción de andrógenos suprarrenales. Así, la administración de glucocorticoides sustituye la deficiencia de cortisol y disminuye la liberación de ACTH, mejorando los efectos nocivos dependientes de andrógenos y el acelerado crecimiento por el avance excesivo de la edad ósea. Si el defecto enzimático lleva asociada una alteración en la síntesis de mineralcorticoides, se debe añadir un esteroide retenedor de sal para mantener un balance adecuado de electrolitos. Además del tratamiento médico, en las niñas virilizadas, será necesaria la reconstrucción quirúrgica de los genitales.

La hidrocortisona oral es el corticoide de elección en pacientes que no han finalizado el crecimiento. Es la hormona más fisiológica y la que menos complicaciones produce por su potencia superponible a la del cortisol endógeno, y por su vida biológica corta de unos 30

minutos. Debe administrarse varias veces al día (cada 6-8 horas) debido a la rápida eliminación de la circulación. La preparación preferida es en comprimidos (enteros o triturados), dado que la suspensión magistral oral es inestable.

La 9-alfa-fluorhidrocortisona (9 α -F) oral es el mineralcorticoide de elección, se debe administrar 1-3 veces al día. Un exceso de mineralcorticoide se relacionará con HTA y elevación de la frecuencia cardiaca.

En esta terapia mantenida durante toda la vida, hay que tener en cuenta los problemas que se van a presentar en relación a:

- Evitar una hipovolemia crónica por déficit de mineralcorticoides, que puede influir igualmente en un crecimiento negativo
- Intentar buscar la dosis ideal de corticoides para tener un crecimiento óptimo
- Optimizar la dosis de cortisol en cada momento y buscar el esteroide con menor efecto supresor sobre el crecimiento
- Realizar la primera intervención quirúrgica (clítoro y vaginoplastia) antes de que la niña tenga una fijación de su sexo externo¹¹⁶.

Si con el tratamiento corticoideo no se consigue suprimir la producción androgénica, los pacientes presentan acné, hirsutismo, edad ósea acelerada, trastornos menstruales e infertilidad. Sin embargo, es complicado conseguir una supresión androgénica sin producir una hipercortisolemia.

Otra parte significativa del tratamiento es el quirúrgico y un soporte psicológico adecuados a estos pacientes y sus familias.

1.2.6.a. Tratamiento médico

i. Inicial. Crisis de pérdida salina

El cuadro de pérdida salina se presenta a partir del séptimo al décimo día de vida en dos tercios de las formas clásicas, y en los pacientes ya diagnosticados en situación de estrés o de enfermedad intercurrente aguda.

Es una situación grave que entraña un riesgo vital para el enfermo si no recibe un tratamiento adecuado de forma inmediata.

Durante la pérdida salina, es característica la deshidratación, preferentemente extracelular, con hipotensión, hiponatremia, hiperpotasemia, acidosis metabólica y tendencia a la hipoglucemia.

Se inicia, normalmente, la rehidratación del paciente con suero fisiológico isotónico, calculando el volumen según las necesidades basales y añadiendo una cantidad por pérdida, de un 10 a un 15 % de su peso corporal, en una deshidratación hipotónica. En niños pequeños, es útil comenzar con una expansión rápida del volumen extracelular a razón de 20 ml/kg/hora de suero fisiológico y posteriormente reponer el volumen según la pauta anterior.

La corrección de la pérdida de sodio se puede calcular mediante la ecuación: $Na\ requerido\ (mEq) = (Na\ deseado - Na\ real) \times 0.6 \times kg$. De esta cantidad, un tercio se repondrá en las primeras 6 horas. Debido a que muchos pacientes asocian acidosis metabólica, parte del sodio se puede aportar en forma de bicarbonato 1/6M.

La corrección de la acidosis metabólica se puede realizar considerando la ecuación: $Bicarbonato\ requerido\ (mEq) = 0.3 \times kg \times (exceso\ de\ base)$.

También se debe incorporar glucosa a la fluidoterapia parenteral a razón de 8 mg/kg/min, administrada en forma de suero glucosado al 5 o 10% según las necesidades de volumen requeridas.

La sustitución con glucocorticoides debe realizarse con dosis altas de hidrocortisona IV, en torno a 100 mg/m²/día, dividida en 3-4 dosis. Estas dosis suprafiológicas administradas en el neonato son necesarias para minimizar la posibilidad de desarrollar una insuficiencia suprarrenal y suprimir adecuadamente los andrógenos adrenales. Estas dosis elevadas de hidrocortisona tienen actividad glucocorticoide y mineralcorticoide, por lo que el tratamiento con mineralcorticoides orales se iniciará cuando la situación clínica del paciente permita el descenso de la dosis de hidrocortisona y exista adecuada tolerancia oral.

El mineralcorticoide utilizado es la 9-alfa-fluorhidrocortisona, habitualmente a una dosis de 0.05-0.2 mg/día, dividido en dos o tres dosis. La dosis de fludrocortisona es superior en el período neonatal y varía entre 150 y 250 µg/día, con una disminución hasta los 100-150 µg/día, aproximadamente, después de los dos años de edad y, hasta los 50 µg/día, después de los 4 años⁵⁷. La sustitución de mineralcorticoides se basa en la presión sanguínea, y en los niveles de sodio y potasio, renina y actividad de renina plasmática (ARP).

ii. Mantenimiento

El tratamiento de mantenimiento se inicia cuando el paciente presenta normalidad hidroelectrolítica y de la tensión arterial, inicia ganancia ponderal y buena tolerancia oral.

La terapia con glucocorticoides es la base del tratamiento en la 21OHD desde el año 1949, en que Wilkins y Bartte demostraron su eficacia¹¹⁷. La dosis diaria total de glucocorticoides ha ido variando a lo largo de los años, inicialmente se preconizaban dosis altas y, más adelante, se ha calculado la dosis de acuerdo con la producción endógena de cortisol (7-9 mg/m²/día en neonatos y 6-8 mg/m²/día en niños y adolescentes)^{118,119}. Otros estudios dan valores inferiores¹¹⁸, sin embargo la experiencia clínica demuestra que son necesarias dosis más altas para suprimir la producción de andrógenos. Encontrar las dosis terapéuticas recomendadas sigue siendo un reto en la actualidad.

La hidrocortisona es el tratamiento más fisiológico al tener una potencia superponible a la del cortisol endógeno; además, por su corta vida biológica, minimiza la afectación sobre el crecimiento y sobre otros efectos adversos.

Todas las guías coinciden en que las dosis de hidrocortisona a usar durante la terapia de mantenimiento en niños están entre 10-15 mg/m²/día repartida 3 veces al día. Sin embargo, esta dosis debe ser individualizada ya que difiere en cada niño por causas que aún se desconocen.

Ninguna pauta consigue un tratamiento sustitutivo ideal, ya que no se consigue reproducir la relación entre los pulsos de cortisol y ACTH, que en condiciones normales inhibirían la secreción de ACTH. Actualmente se está trabajando para desarrollar una presentación de hidrocortisona de liberación modificada (MR-HC)-Chronocort. Estudios clínicos en fase 2 sugieren que el uso de esta forma de hidrocortisona imita mejor los pulsos de cortisol fisiológicos y disminuye la concentración matutina de 17-OHP. También se ha implementado la infusión de hidrocortisona por medio de una bomba programable e infusiones subcutáneas continuas de hidrocortisona¹²⁰.

Una vez que se ha conseguido la talla adulta, la hidrocortisona se puede sustituir por dexametasona (de 0.25 a 0.5 mg/día ó 0.25-0.375 mg/m²/día, en dosis nocturna) o por prednisona o prednisolona (de 5 a 7.5 mg/día ó 2-5 mg/m²/día, dividido en dos dosis), que no excedan el equivalente de 20-25 mg/m²/día de hidrocortisona. Estas sustancias son más potentes y de acción más duradera en relación a la hidrocortisona, pero necesitan un ajuste más cuidadoso por su riesgo de hiperdosificación.

En la tabla 2 se puede apreciar el efecto retardador sobre el crecimiento de algunos corticoides como la prednisona y dexametasona, motivo por el que no se deben usar hasta que el crecimiento haya terminado.

El mineralcorticoide sólo es útil si el riñón recibe suficiente sodio y es necesario el suplemento de sal en forma de cloruro sódico (4-6 mEq/kg/día) a los recién nacidos que son amamantados, debido a la baja concentración de sodio de la leche materna. Con la introducción de la alimentación complementaria en torno a los 6 meses de edad, este suplemento puede aportarse con la ingesta de comidas saladas.

Compuesto	Acción		
	Antiinflamatoria	Retención de sodio	Retraso del crecimiento
Cortisol (hidrocortisona)	1	1	1
Acetato de cortisona (oral)	0.8	0.8	0.8
Prednisona	4	0.8	5
Betametasona	25-30	0	80
Dexametasona	30	0	80
9-α-fluorocortisol	15	200	-
Aldosterona	0	500	-

Tabla 2. Potencia de los esteroides en relación con el cortisol.

A pesar de que la mayoría de los recién nacidos tienen una presión sanguínea y niveles de sodio normales, con frecuencia la ARP es elevada; sobre los 4 ng/ml/h. Durante el período neonatal es importante realizar evaluaciones clínicas frecuentes para adaptar la dosis de fludrocortisona, evitar un exceso de mineralcorticoides, los cuales causan retención hídrica, edemas, hipertensión e insuficiencia cardíaca, y también para evitar insuficiencia e mineralcorticoides y sal, cuya deficiencia no corrige la hipovolemia y el desequilibrio de electrolitos.

Aunque los pacientes con la forma virilizante simple secretan una cantidad suficiente de aldosterona que consigue evitar la crisis de pérdida salina, algunos presentan niveles elevados de renina, indicando un déficit relativo de mineralcorticoides. La utilización de fludrocortisona se puede añadir al tratamiento de pacientes con forma de virilización simple, sobre todo en aquellos sin control hormonal aunque tengan dosis de glucocorticoides adecuadas. El control de los niveles de renina ayuda a la supresión adrenocortical ya que actúa frenando la secreción de vasopresina y ACTH y ayuda a reducir la dosis de

glucocorticoides necesaria. Esto se basa en que los niveles de 17-OHP elevados tienen una acción antagonista mineralcorticoide, y añadir fludrocortisona lleva frecuentemente una reducción de la dosis de glucocorticoide y a una mejoría del control hormonal.

1.2.6.b. Descompensación suprarrenal

Los pacientes con 21OHD forma clásica no pueden afrontar una respuesta suficiente de cortisol al estrés y requieren dosis superiores de glucocorticoides en situaciones de enfermedades febriles, vómitos, traumatismos, extracciones dentarias y de cirugía mayor. Enfermedades leves pueden convertirse en amenazas a la vida para los niños con forma de pérdida salina e incluso en aquellos con forma de virilización simple. Las directrices de dosificación consisten en duplicar o triplicar la dosis oral de mantenimiento de hidrocortisona en función de la situación y del grado de estrés. Los padres han de estar informados sobre la necesidad de duplicar la dosis de glucocorticoides durante condiciones de estrés; mientras que no se requieren cambios en la dosis diaria de fludrocortisona. Si existe tolerancia oral deberán tomar además, hidratos de carbono de absorción rápida.

Si no se tolera la medicación oral, aparecen vómitos o deterioro de la ingesta, debe administrarse el corticoide por vía intramuscular o intravenosa. El tratamiento con hidrocortisona se dará vía parenteral en dosis de 25 mg para niños de 0 a 1 año, 50 mg para niños de 1- 5 años y 100 mg para niños mayores de 5 años. Estas dosis se repiten cada 6-8 horas. En relación a una dosis más ajustada al peso se administrarán hidrocortisona a dosis de 4-6 mg/kg de peso, para continuar con 5-15 mg/kg/día cada 4-6 horas.

Los pacientes y los padres deberían recibir información sobre este tipo de situaciones de emergencia y todos los pacientes deberían llevar identificación con información sobre su enfermedad.

1.2.6.c. Otras medidas terapéuticas en estudio

Las pautas de tratamiento exponen a la mayoría de los pacientes a un hipercortisolismo, un hiperandrogenismo, o a ambos, por lo que se continúan buscando alternativas terapéuticas que mejoren el crecimiento y la evolución a largo plazo de estos pacientes. Se están realizando ensayos clínicos con medicamentos que bloquean el receptores de andrógenos, como acetato de ciproterona, flutamida (o derivados como la nilutamida o bicalutamida) o espironolactona, para disminuir las consecuencias negativas del hiperandrogenismo y permitir una menor dosis de hidrocortisona.

Otra pauta en investigación es la adición de carbenoxolona, un inhibidor de 11- β -HSD; esta enzima interviene en la inactivación del cortisol y su inhibición generaría mayores niveles de cortisol endógeno, posibilitando disminuir la dosis de hidrocortisona.

En algunos estudios aislados se ha propuesto la adrenalectomía como una alternativa al tratamiento. Es una medida muy radical que conlleva los riesgos del procedimiento quirúrgico, más el riesgo de una insuficiencia suprarrenal iatrogénica. En la actualidad esta posibilidad se puede considerar muy remota. Las formas severas, especialmente en las mujeres, y cuando son resistentes al tratamiento convencional, podrían manejarse más fácilmente convirtiéndolas en pacientes addisonianas. Estas pacientes de difícil manejo terapéutico están en situación de riesgo de desarrollar un hipercortisolismo iatrogénico y presentan hiperproducción androgénica suprarrenal casi permanente; en ellas se piensa que la glándula suprarrenal sirve únicamente para empeorar la situación. Las opiniones en contra de este tratamiento argumentan que los efectos beneficiosos de la secreción endógena de DHEA sobre el perfil lipídico, la libido y la calidad de vida se perderían con la adrenalectomía¹²¹.

Para la optimización de la talla final se ha propuesto la terapia con hormona de crecimiento, los análogos de gonadotropinas (GnRHa), los inhibidores de la aromatasas (anastrozol) y los antiandrógenos de forma individual o en terapia combinada¹²⁰.

1.2.6.d. Control del tratamiento

El buen control terapéutico es fundamental para asegurar un buen crecimiento y desarrollo y una ausencia de complicaciones a largo plazo. Estos pacientes están sometidos a tratamiento corticoideo a largo plazo y a pesar de que se usan dosis lo más fisiológicas posibles son inevitables los períodos de hiperdosificación y de hipodosificación. El objetivo es buscar la dosis mínima eficaz que garantice un buen crecimiento y una adecuada supresión de los andrógenos suprarrenales.

Los parámetros de vigilancia incluyen datos clínicos, como edad ósea, peso, talla y velocidad de crecimiento y hormonales, como determinación de 17-OHP, testosterona, ACTH, iones y ARP. Los datos clínicos son los mejores indicadores para la monitorización del tratamiento pero cuando se deterioran ya es tarde para tomar medidas.

Los parámetros analíticos se ven afectados por el horario de ingesta de la medicación, el ritmo circadiano y la influencia de otros factores como el estrés, la capacidad de absorción del medicamento y el ciclo menstrual por lo que su correlación con el tratamiento puede ser difícil.

Se consideraba un buen control hormonal conseguir niveles de 17-OHP entre 4 y 10 ng/ml⁵⁷. Sin embargo, niveles de 17-OHP <10 ng/ml, se asocian, frecuentemente, con una velocidad inferior de crecimiento. La 17-OHP por sus variaciones circadianas importantes, no presenta una buena correlación con los criterios de control clínico y pretender conseguir unos niveles de 17-OHP normales supone exponer al paciente a una sobredosificación.

Los marcadores que mejor se relacionan con el control clínico son la Δ 4-androstendiona y la testosterona; esta última no es útil como parámetro de control durante la pubertad en el sexo masculino ya que hay una secreción testicular importante.

Las dosis de glucocorticoides se adaptan en cada consulta dependiendo de la superficie corporal, los niveles de andrógenos en el suero, la velocidad de crecimiento y la maduración ósea.

La dosis de mineralcorticoides debería ser la suficiente como para mantener los niveles de electrolitos y el balance hídrico sin excesiva retención de sal ni hipertensión.

En la infancia, los controles de pacientes con 21OHD deben realizarse cada tres meses. Cuando reciben un tratamiento adecuado, el desarrollo de la pubertad tiene lugar a la misma edad que en la población normal. Deben obtenerse muestras de sangre, preferiblemente por la mañana, en decúbito y antes de tomar glucocorticoides, para tener un control de la terapia.

Además, los laboratorios deberían acordar la estandarización de los valores según el sexo, la edad y el desarrollo sexual para permitir una interpretación adecuada de los exámenes de laboratorio. Además de los análisis de sangre, también se ha de evaluar cada 6-12 meses la edad ósea durante el período de crecimiento.

En varones la evaluación ecográfica de los testículos es también necesaria, sobre todo en aquellos que abandonaron la terapia o no la siguieron correctamente. Los tumores testiculares suprarrenales, uni o bilaterales, son frecuentes en situaciones de niveles elevados de ACTH. Con un tratamiento de glucocorticoides adecuado suelen mejorar¹²².

En la edad adulta, el control hormonal se evalúa a partir de los niveles de androstendiona en varones y de niveles de androstendiona y testosterona en mujeres durante la fase folicular. La necesidad del uso continuado de fludrocortisona ha de volver a ser evaluado en los pacientes con forma de pérdida de sal. Para los que tienen niveles de ARP normales, se disminuye gradualmente la dosis de fludrocortisona. Si no existe un aumento en

los niveles de ARP o de hipotensión ortostática, la administración del medicamento puede pararse.

1.2.6.e. Tratamiento quirúrgico

La corrección quirúrgica de los genitales virilizados es importante para el futuro de la paciente. La actitud terapéutica se inicia con la asignación precoz del sexo lo que obliga a un diagnóstico temprano ya en el período neonatal. La asignación del sexo recomendada debe ser la del sexo genético/gonadal por la posibilidad de tener una función reproductora normal. La cirugía precoz en un solo tiempo hacia los 12-18 meses de edad ofrece ventajas técnicas y de funcionalidad a largo plazo. La cuestión de cómo y cuándo intervenir quirúrgicamente sigue siendo tema de debate.

Los objetivos de la genitoplastia son:

- Prevenir las complicaciones del tracto urinario. Conseguir un vaciado urinario sin obstrucciones y sin riesgos de infecciones o incontinencia
- Mantener la sensibilidad, un introito vaginal normal y totalmente separado del orificio de la uretra
- Remover el tejido eréctil fálico preservando la inervación glandular y la vascularización
- Asegurar una apertura vaginal adecuada para permitir relaciones con penetración y el flujo sanguíneo de la menstruación que posibiliten en la edad adulta una función sexual y reproductora normal

Las Guías de la Sociedad de Endocrinología (2010) recomiendan³¹:

- Considerar la reconstrucción del clítoris y perineal en mujeres severamente virilizadas (Prader 3 o mayor) durante la infancia. A realizar en centros especializados por un cirujano experto con apoyo de pediatras endocrinólogos, profesionales en salud mental y trabajadores sociales.
- Solo las malformaciones urinarias, infrecuentes, requerirían cirugía urgente.
- No hay evidencia de cuál es la mejor edad para la cirugía feminizante, siendo las ventajas de la cirugía:
 - Precoz: evitar las consecuencias psicosociales de los genitales diferentes.

- Tardía: el perfeccionamiento de las técnicas quirúrgicas con el tiempo, y la posibilidad de que sea el paciente el que decida.

La identidad sexual de los niños comienza antes de los dos años de edad, por lo que la genitoplastia debería ser realizada antes de dicha edad. Las guías sugieren que el momento de la cirugía ha de ser precoz en los casos en los que existe una confluencia vaginal baja, debiéndose realizar vaginoplastia, reconstrucción perineal y clitoroplastia (si es necesaria)³⁰. Se basan en la menor dificultad técnica en etapas precoces por las características de los tejidos, que son más elásticos por la reciente exposición a estrógenos placentarios.

Se han de minimizar al máximo las exploraciones genitales para evitar el trauma psicológico que ello supone y sus consecuencias sobre el desarrollo psicosexual a largo plazo. La calidad de la reconstrucción de los genitales externos en una mujer afecta tiene gran trascendencia y repercusión sobre la función sexual y reproductora, de manera que se aconseja realizar dichas intervenciones únicamente en centros de referencia con suficiente experiencia que se cifra en la realización de 4-3 casos por año³⁰. La ambigüedad genital sigue siendo una causa de trastornos psicológicos para la propia paciente y para su familia por lo que es mandatorio un apoyo especializado en este sentido. En ocasiones un introito vaginal inadecuado, además de producir una experiencia sexual disuasoria, deteriora la propia imagen de la paciente en cuanto a su capacidad reproductora y refuerza cualquier duda que la paciente pueda tener sobre su feminidad.

Es difícil conocer cuál es el impacto emocional y psicológico que las intervenciones y las exploraciones repetidas que precisan tienen en el desarrollo de la psicología de la mujer afecta. Los estudios realizados muestran una calidad de vida disminuida¹²³⁻¹²⁶. Diversos autores¹²⁷⁻¹²⁹ coinciden en afirmar que una mejor cirugía plástica y un tratamiento corticoideo correcto pueden conseguir que una paciente virilizada por 21OHD lleve una vida normal.

1.2.6.f. Tratamiento de las formas no clásicas

El tratamiento de pacientes con forma no clásica está indicado en pacientes que presentan síntomas como: pubarquia precoz, hirsutismo, oligomenorrea, acné fuera del período de la pubertad, infertilidad y nódulos suprarrenales. Exceptuando la pubarquia precoz y la infertilidad, para el resto de los síntomas hiperandrogénicos, al uso de glucocorticoides, a veces, se asocian medicamentos antiandrogénicos⁵⁷.

1.2.6.g. Diagnóstico y tratamiento prenatal

Está indicado sólo en embarazos de riesgo de la forma clásica para evitar virilización de los genitales externos en fetos de mujeres afectadas. Se trata de padres portadores de las mutaciones CYP21A2 que predicen la manifestación clínica de las formas clásicas. La corteza suprarrenal se forma alrededor de la 4ª semana de gestación y los andrógenos son secretados en la 7ª semana. Niveles elevados de andrógenos en fetos femeninos afectados ejercerán su acción a través del receptor de andrógenos, y desarrollarán varios grados de virilización genital externa. La virilización de los genitales externos se produce entre la semana 8-12 de gestación. Por este motivo, es necesario comenzar el tratamiento prenatal antes de conocer el sexo del feto o saber si está, o no, afectado.

El diagnóstico prenatal se realiza mediante el análisis de mutaciones del gen CYP21A2 mediante amniocentesis (hacia la 12-15 semana) o biopsia de vellosidades coriales (10 semana) que asocie la determinación del sexo fetal mediante un análisis de cariotipo o la ampliación del gen SRY (sex-determining región Y) a partir de la reacción en cadena de la polimerasa.

La dosis recomendada de dexametasona es 20 µg/kg/día, dividida en tres dosis, sin sobrepasar 1,5 mg/día y comenzando siempre antes de la 7ª-8ª semana de gestación. El medicamento se mantiene hasta la semana 10-12 de gestación, momento en el cual se toma una muestra de vellosidad coriónica para la obtención de ADN del feto.

Ante un feto XY, la dexametasona debe suspenderse y ante un feto XX, la dexametasona debe proseguirse hasta que se realice el estudio en el ADN fetal de las mutaciones encontradas en el caso índice. La dexametasona se suspende si el ADN del feto no presenta mutaciones o presenta sólo un alelo afectado. Sin embargo, si los dos alelos del feto aparecen mutados, el tratamiento ha de mantenerse hasta el nacimiento ya que se trata de feto femenino afecto de 21OHD. Tras esto, la sustitución de los glucocorticoides y mineralcorticoides se inicia en el recién nacido.

El estudio de ADN fetal en sangre materna puede identificar el sexo a partir de la 6ª semana, aunque alcanza sensibilidad al 100% en la 10ª semana. Permite seleccionar los embarazos a tratar: evita el tratamiento de fetos varones pero no evita el tratamiento de niñas no afectas. La secuenciación masiva en ADN fetal circulante posiblemente permitirá el diagnóstico muy precoz (6ª semana) del feto afecto de 21OHD, aunque todavía esta técnica se encuentra fuera de contexto clínico. La presencia conjunta de ADN fetal y materno obliga

al análisis mediante marcadores polimórficos ya que la complejidad del locus CYP21A2 impide el análisis directo¹³⁰.

El diagnóstico preimplantacional todavía no está disponible generalizadamente. Debe ser realizado en centros con experiencia al realizarse sobre una célula y requerir de amplificación in vitro, dadas las características especiales de este locus¹³¹.

1.2.7. Crecimiento

1.2.7.a. Patrón de crecimiento normal

El crecimiento humano normal sigue una curva con morfología sigmoide, constituida por dos períodos de crecimiento muy rápido, prenatal-dos primeros años y puberal, separados por un periodo de crecimiento más lento y estable, entre los 3 años y el inicio del estirón puberal¹³². Kalberg¹³³ propuso un modelo de curva de crecimiento, conocido como “modelo ICP” (fetal-infancy, childhood, puberty) en el que la curva de crecimiento está constituida por tres etapas: fetal y primera infancia, prepuberal o segunda infancia y puberal.

i. Componente fetal-primera infancia

Se extiende desde la mitad de la gestación hasta aproximadamente los 2-3 años. Durante el periodo fetal, la velocidad de crecimiento (VC) es muy rápida (62 cm/año entre la 12 y 24 semanas de gestación) y continúa siéndolo durante los tres primeros años de vida postnatal; sin embargo la VC en el período postnatal va enlenteciéndose: 25 cm el primer año, 10-12 cm el segundo año y 8 cm el tercer año.

El crecimiento fetal, en ausencia de anomalías genéticas, está limitado por el espacio disponible para crecer (tamaño uterino y materno) y por la nutrición, que depende, a su vez, de la función placentaria (aporte de oxígeno y nutrientes). Durante los primeros meses de vida, pese a que la nutrición continúa siendo el principal factor determinante del crecimiento, la influencia del genotipo se va haciendo más evidente. Entre el 2º y 3er año de vida, se produce un fenómeno de canalización, por el cual el niño establece su propio canal de crecimiento, influenciado por el potencial de crecimiento familiar (talla alta familiar, media o baja) y/o ritmo madurativo (rápido, normal o lento), ambos determinados genéticamente.

En la regulación hormonal del componente fetal, la insulina y los factores de crecimiento semejantes a la insulina (IGF-1 e IGF-2), juegan un papel importante. En el período postnatal, la hormona de crecimiento se irá convirtiendo en la principal reguladora del crecimiento de forma gradual y progresiva.

ii. Componente de la segunda infancia o prepuberal

Durante este período se produce una reducción progresiva de la velocidad de crecimiento (5-7 cm/año) hasta el inicio del estirón puberal, momento en que se alcanza el nadir de velocidad de crecimiento (4,5 y 5 cm/año).

El principal determinante del componente prepuberal es el genotipo y su principal regulador el eje GH-IGFs, aunque otras hormonas (insulina, hormonas tiroideas, andrógenos suprarrenales -responsables del estirón asociado a la adrenarquia-, glucocorticoides, leptina, paratohormona, vitamina D...) y factores de crecimiento locales contribuyen también al control normal del crecimiento. La diferencia en la velocidad de crecimiento a lo largo de todo el periodo prepuberal es la principal responsable de la diferencia de talla adulta entre los sujetos con talla familiar alta o baja.

iii. Componente puberal

La aparición del componente puberal está determinada por el genotipo y condicionada por la presencia de los esteroides sexuales, que actúan sinérgicamente con GH provocando el estirón puberal, el cierre de los cartílagos de crecimiento y la finalización de este. Una maduración normal, pero adelantada o retrasada respecto a la media, modifica la edad a la que se alcanza la talla adulta, pero no la magnitud de ésta.

En las niñas, el “estirón puberal” suele coincidir con la aparición del botón mamario (estadio II de Tanner) en torno a los 10,5-11 años. La menarquia (estadio IV de Tanner) se produce unos 2 años después, cuando el estirón está prácticamente finalizado. El crecimiento postmenarquia es muy variable, entre 4 y 11 cm (media de 6-7 cm). En los varones, el estirón puberal se inicia más tardíamente, aproximadamente un año después (12,5-13 años) del inicio puberal (definido por volumen testicular ≥ 4 ml)¹³⁴.

El crecimiento cesa en los varones y mujeres a una edad media de 21 y 17 años, respectivamente. La ganancia de talla, desde el inicio del estirón hasta la finalización del crecimiento, supone unos 25-30 cm en los varones y unos 23-27 en la mujeres¹³⁵.

1.2.7.b. Crecimiento y corticoides

El uso prolongado de corticoides en los niños afecta al crecimiento por varios mecanismos. Por un lado, disminuyen la secreción y la acción de la GH, y pueden afectar a la expresión del GHBP y a la expresión y sensibilidad al IGF-1.

A nivel del cartílago de crecimiento, los glucocorticoides afectan a la condrogénesis y al crecimiento longitudinal del hueso. Reducen la celularidad, la proliferación celular y el

contenido en proteoglicano. La dexametasona, administrada tanto de forma continua como en días alternos, inhibe la proliferación de los condrocitos y disminuye la zona de mineralización en un estudio in vitro. Además, regulan a la baja la expresión de proteínas antiapoptóticas (como Bcl-2 y Bcl-x), lo que incrementa hasta cuatro veces la apoptosis en los condrocitos hipertróficos terminales del cartílago de crecimiento de la rata. Estos efectos sobre el cartílago de crecimiento podrían ser directos o indirectos, a través de la repercusión sobre otros factores de crecimiento sistémicos¹³⁶.

El tratamiento con corticoides en pacientes con 21OHD es imprescindible para mejorar la evolución de la enfermedad.

1.2.7.c. Crecimiento en 21OHD

La afectación de la talla adulta puede ser debida al hipercortisolismo, hiperandrogenismo o ambos. A pesar del cuidadoso control médico y del buen cumplimiento terapéutico por parte de los pacientes, la talla final media reportada en diferentes trabajos se sitúa entre -1 y -2 DE en relación a la media poblacional e inferior a la talla genética, aproximadamente a -1 DE¹³⁷.

El objetivo del tratamiento es sustituir la producción de cortisol y/o aldosterona y frenar el estímulo del ACTH para evitar el hiperandrogenismo suprarrenal con la dosis mínima de glucocorticoides. La dosis de hidrocortisona utilizada siempre es superior a la dosis fisiológica de secreción del cortisol. Ninguna pauta fraccionada de hidrocortisona mimetiza la secreción de cortisol fisiológica, circadiana, pulsátil y regulada por el estrés y otros estímulos del cortisol. A lo largo del día, es fácil que un mismo paciente alterne períodos de hipercortisolismo y períodos de hipocortisolismo con hiperandrogenismo.

El tratamiento correcto con glucocorticoides y mineralcorticoides es probablemente la parte esencial para una buena evolución, ya que:

- a) Un tratamiento insuficiente conduciría a un fallo de medro e hiperandrogenismo, con posible afectación del crecimiento con pseudopubertad precoz sin desarrollo gonadal, de la fertilidad y de la mineralización ósea.
- b) Una dosis suprafisiológica de glucocorticoides podría afectar también al crecimiento y a la masa ósea¹³⁸⁻¹⁴⁰.

Existen dos períodos críticos de crecimiento durante la infancia, en los que la optimización terapéutica es fundamental: la primera infancia y la pubertad. El primero es un período vulnerable en el que existe riesgo de hiperdosificación debido a las

descompensaciones clínicas secundarias a infecciones que se producen. El segundo, por ser un período de difícil control debido a los cambios hormonales que favorecen el hipocortisolismo y el hiperandrogenismo. La talla es claramente inferior a la población de referencia, en los momentos de máximo crecimiento: en el primer año de vida y durante el brote puberal de crecimiento¹⁴¹.

La mejoría del control clínico a partir del año de vida, podría permitir una recuperación del ritmo de crecimiento hasta el tercer año de vida, seguida de un crecimiento normal hasta el inicio del brote puberal de crecimiento. Sin embargo, esta recuperación parece ser insuficiente para permitir alcanzar valores en desviaciones estándar de talla similares al momento del nacimiento³³.

Durante el período puberal tienen un crecimiento inferior al de la población de referencia, y la explicación más plausible del insuficiente crecimiento durante este período podría ser un exceso de glucocorticoides en el tratamiento.

Uno de los objetivos del tratamiento a largo plazo es conseguir un crecimiento adecuado que permita alcanzar una talla adulta normal para la población de referencia y para el potencial genético del individuo.

1.2.8. Evolución

En los pacientes afectados de 21OHD hay que valorar evolutivamente una serie de parámetros: crecimiento, pubertad, mineralización ósea, ectopias adrenales en testes y adaptación psicosocial.

1.2.8.a. Pubertad

El aumento de los niveles de andrógenos suprarrenales en los pacientes no tratados o mal controlados puede alterar el inicio y/o progresión de la pubertad.

Los pacientes con 21OHD no tratados presentan una evolución hacia una pseudopubertad precoz isosexual en el varón y heterosexual en la mujer, y lo mismo ocurre sistemáticamente en los pacientes tratados erróneamente con glucocorticoides y en un porcentaje elevado de las formas clásicas. El hiperandrogenismo resultante de un tratamiento insuficiente puede ser responsable de un crecimiento y maduración ósea exagerados durante la infancia, con la aparición de un cuadro clínico de pseudopubertad precoz, con desarrollo de los genitales externos, pene y vello pubiano sin desarrollo de los testículos en el varón y clitoromegalia con vello pubiano sin desarrollo de las mamas en la mujer, con aceleración de

la maduración ósea en los dos sexos, por la acción de los esteroides suprarrenales en los tejidos periféricos e inhibición del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal¹⁴². Se han sugerido tres hipótesis para este mecanismo¹⁴³:

Los valores elevados de esteroides sexuales, igual que ocurre con los tumores ováricos de la granulosa, condicionan la elevación precoz de las gonadotropinas.

La edad ósea elevada sería la que determinaría una maduración precoz por un mecanismo similar al que desencadena la pubertad fisiológica, induciendo una pubertad precoz central secundaria a pubertad precoz periférica.

En aquellos casos en que la pubertad precoz se presenta al iniciar el tratamiento corticoideo o cuando éste es más eficaz, el incremento de las gonadotropinas podría deberse a la disminución de los andrógenos.

1.2.8.b. Mineralización

El tratamiento con glucocorticoides a largo plazo disminuye la densidad mineral ósea (DMO), mientras el hiperandrogenismo la protege.

La corticoterapia crónica a altas dosis sobre la masa ósea provoca osteoporosis, sin embargo los efectos de dosis pequeñas, como las usadas en el tratamiento de la 21OHD, no está claro que la induzcan^{138,139,144}. Diversos estudios¹⁴⁵ muestran que la corticoterapia crónica en los pacientes con 21OHD afecta más a la talla al llegar a adultos que a la masa ósea; en cambio, ninguno de estos dos factores se encuentra afectado en el período prepuberal.

La DMO no se ve afectada en niños y adultos jóvenes con 21OHD en tratamiento sustitutivo. La evidencia no recomienda el estudio sistemático de DMO en la edad pediátrica⁸⁷. Sin embargo, en edades adultas más avanzadas podría existir una afectación de la DMO, de ahí la importancia de vigilar la masa ósea para evitar la aparición de osteopenia, por la posibilidad que presentan de desarrollar una osteoporosis a largo plazo. Se deberá realizar profilaxis en pacientes jóvenes con 21OHD con ejercicio físico y suplementos de calcio y vitamina D.

1.2.8.c. Alteraciones metabólicas

Durante la infancia, los pacientes con 21OHD comienzan a ganar peso precozmente; es decir presentan el rebote adiposo a una edad más adelantada en comparación con la normalidad (1,7 años vs 5,5 años) y ello se correlaciona con obesidad en la edad adulta^{146,147}. Se han descrito un incremento significativo del IMC a los 5 y 10 años, así como un aumento

de la leptina e insulinoresistencia³⁰. Un índice de masa corporal elevado durante la infancia se correlaciona con peor talla final y mayor sobrepeso en la edad adulta y puede ser un buen marcador de hiperdosificación.

En la edad adulta, presentan un mayor riesgo de obesidad derivado del tratamiento crónico con glucocorticoides, lo que implica una mayor predisposición al síndrome metabólico^{148,149}.

1.2.8.d. Fertilidad

El aumento de los niveles de andrógenos suprarrenales en los pacientes no tratados o mal controlados puede determinar una disfunción gonadal y una disminución de la fertilidad. El abordaje de los problemas de la función gonadal varía en función del sexo ya que la mujer presenta con más frecuencia disminución de la fertilidad y disfunción gonadal que el varón, por inhibición de la secreción cíclica de las gonadotropinas por los andrógenos suprarrenales¹⁵⁰.

Las mujeres con formas clásicas de 21OHD correctamente tratadas con corticoides consiguen una fertilidad normal en un porcentaje elevado de casos¹⁴², sin embargo las no tratadas suelen ser infértiles, salvo casos excepcionales¹⁵¹. Las pacientes mal controladas presentan hirsutismo, oligomenorrea, amenorrea, menorragia, acné y una constelación de signos y síntomas propios del síndrome de ovario poliquístico. Diversos estudios parecen demostrar que aún en ausencia de mal control metabólico y a pesar de un tratamiento adecuado estas pacientes presentan una alta incidencia de hiperandrogenismo ovárico, anovulación e infertilidad. Las irregularidades menstruales son frecuentes y pueden llegar hasta el 70 % de las pacientes¹⁵². Las mujeres con formas clásicas con pérdida salina presenta un menor índice de fertilidad que la forma virilizante simple^{127,153}.

La fertilidad disminuida en las mujeres con 21OHD se debe a¹²⁷:

- Falta de aceptación del tratamiento, sugerida por el hirsutismo y el escaso seguimiento endocrinológico.
- Falta de corrección adecuada de genitales externos que les permita mantener relaciones sexuales.

En los varones, existen resultados contradictorios en relación con la fertilidad, aunque lo que está claro es que los varones tienen una menor afectación del eje gonadal en comparación con las mujeres. La disminución de la fertilidad en el varón puede ser debida a la inhibición del eje GnRH como consecuencia del hiperandrogenismo suprarrenal y a la

presencia de nódulos testiculares de restos de tejido ectópico suprarrenal. Existe menor afectación en la forma virilizante simple que en las formas con pérdida salina¹⁵⁴.

1.2.8.e. Restos suprarrenales ectópicos

En la 21OHD se encuentran casi exclusivamente en varones, si bien también se puede presentar, excepcionalmente, en el ovario de una mujer afecta. Se asocian fundamentalmente a la forma clásica con pérdida salina (80 %); también se han descrito, pero menos frecuentemente, en las formas virilizante simple¹⁵⁵.

Los restos adrenales testiculares (TAR) corresponden a restos de la glándula suprarrenal que descendieron con la gónada. Estos nódulos destruyen progresivamente los túbulos testiculares y las células de Leydig, con bajas concentraciones de testosterona y aumento de las gonadotrofinas. El aumento de ACTH puede producir una hiperplasia de los mismos, en pacientes con mala adherencia al tratamiento o infratratados.

Sin embargo la presencia de nódulos testiculares en varones con tratamiento adecuado y buen control hormonal hace pensar que un tratamiento insuficiente no sea el único factor involucrado¹⁵⁶⁻¹⁵⁸. La severidad del defecto enzimático puede ser un factor importante ya que son más frecuentes en la forma pierde sal que en la virilizante simple y especialmente en aquellos con un genotipo severo (deleción en homocigosis o heterocigosis); en este sentido, dentro de las formas clásicas, se ha demostrado que los pacientes con genotipo severo por deleción presentan mayor incidencia de nódulos y a su vez de mayor tamaño que el resto^{156,157}.

Se trata de lesiones benignas. Se estima que la prevalencia en niños de entre 2 y 18 años es de 21-28%³⁰. Ecográficamente se describen como imágenes hipocóicas, uni o bilaterales, hipervascularizadas, localizadas en el mediastino testicular. El diagnóstico precoz es importante para evitar la disfunción gonadal y preservar la fertilidad por lo que se recomienda realizar ecografías testiculares a intervalos de 6 meses-1 año a partir de la pubertad, si bien se han detectado nódulos en la edad prepuberal¹⁵⁸⁻¹⁶⁰.

El tratamiento se basa en la optimización del tratamiento corticoideo para frenar la ACTH. Se prefiere la utilización de dexametasona (0,5-1 mg/día) con objeto de frenar la ACTH y conseguir la involución de los nódulos^{157,160-163}. En los casos que no responden al tratamiento se pueden hacer autónomos. En esos casos si el resto del parénquima testicular está sano se indica una tumorectomía selectiva que permita conservar la función del resto del parénquima testicular, no habiéndose descrito ningún caso de recurrencia¹⁶⁴.

El exceso de secreción androgénica puede incrementar la aromatización de los andrógenos a estrógenos, produciendo supresión de la secreción de gonadotropinas, causando hipogonadismo hipogonadotropo, atrofia testicular y oligospermia^{156,157}. Aunque los varones con 21OHD forma clásica pueden tener una pubertad, función testicular y espermatogénesis normales, hasta el 30% presentarán infertilidad¹⁶⁵. El control adecuado de la secreción androgénica parece ser crucial para preservar la fertilidad en la edad adulta⁵².

1.2.8.f. Adaptación psicosexual

Las formas clásicas de hiperplasia suprarrenal congénita se incluyen dentro de las Anomalías de la Diferenciación Sexual (ADS) o Diferencias del Desarrollo Sexual (DSD), debido a la virilización de los genitales externos en las recién nacidas (cariotipo 46XX) por el exceso de producción de andrógenos durante la vida fetal.

Existen otras muchas enfermedades que se incluyen en este conjunto de ADS/DSD, todas ellas diferentes y con características propias. El criterio común que las define es la discordancia entre los criterios cromosómico (cariotipo 46XX, 46XY y formas mixtas), gonadal (ovario, teste, gónada disgenética y ovoteste) y de genitales externos (femeninos, masculinos o “diferentes”) que definen el género (femenino o masculino)¹⁶⁶. En el Consenso de Chicago de 2006 se eliminaron términos que pudieran resultar peyorativos como “pseudohermafroditismo” y “hermafroditismo”, sustituyéndose por el de “Anomalías del Desarrollo Sexual” (ADS)¹⁶⁷. Esta denominación no ha sido aceptada completamente por las personas afectas, y en la actualidad se propone el término de “Desarrollo Sexual Diferente” (DSD)¹⁶⁸.

Las DSD se subdividen (Consenso de Chicago de 2006) en tres grupos¹⁶⁷:

- DSD por alteraciones en los cromosomas sexuales:
 1. 45,X o Síndrome de Turner (sin anomalías en genitales externos pero con gónada disgenética)
 2. 47,XXY o Síndrome de Klinefelter (sin anomalías en genitales externos pero con gónada disgenética)
 3. 45,X/46,XY o Disgenesia Gonadal Mixta
 4. 46,XX/46,XY o Quimera o DSD Ovotesticular
- 46,XX DSD:
 1. HSC por 21OHD, constituye el grupo mayoritario

2. DSD Ovotesticular

3. DSD Testicular (varones con cariotipo 46,XX)

4. Otros

- 46,XY DSD: grupo heterogéneo que abarca múltiples patologías que se subclasifican en función del tipo de alteración:

1. Alteraciones del desarrollo de la gónada (gónada disgenética)

2. Alteraciones en la síntesis o acción de los andrógenos.

El enfoque, tanto diagnóstico como terapéutico, de cada una de estas entidades es diferente. No todas cursan con genitales “diferentes”, ni todas presentan una frecuencia elevada de disforia de género, tampoco cursan todas con gónadas disgenéticas.

En el caso concreto de las formas severas o clásicas de 21OHD, las gónadas son normales en ambos sexos. En los varones también lo son los genitales externos. Las mujeres poseen ovarios, útero y trompas normales, pero presentan virilización de los genitales externos en mayor o menor grado.

Una de las decisiones más complejas y críticas del tratamiento es la asignación de sexo en etapas precoces de la vida. Los que tomarán la decisión final son los padres asesorados por un equipo médico multidisciplinar con experiencia (pediatras endocrinólogos, cirujanos, urólogos pediátricos, ginecólogos, neonatólogos, genetistas, psicólogos, asistentes sociales, etc.), que les informará de las ventajas y desventajas de las diferentes opciones de tratamiento.

En los últimos años, han surgido nuevas propuestas que apuestan por diferir la cirugía electiva (que no requiera atención urgente) para que el paciente participe en la toma de decisiones tanto del género asignado como del tipo de cirugía. Debemos valorar las dificultades que va a tener que afrontar un niño/a para presentarse en sociedad con unos genitales “diferentes” y con una asignación de género sin decidir. Para asumir esta cirugía diferida en las familias que deseen esta opción es imprescindible realizar protocolos de cuidados no-quirúrgicos que permitan a los padres y a los niños afectados enfrentarse a la presión social de tener unos genitales atípicos.

En mujeres 46,XX con 21OHD y genitales externos virilizados la asignación de sexo que se recomienda, en general la de sexo femenino, cuando el diagnóstico se lleve a cabo en el periodo neonatal/primeros meses de edad. Se debe realizar el diseño de las cirugías

necesarias de forma individualizada y consensuada entre los padres y el equipo médico (pediatra endocrino, cirujano, genetista, etc). En la mayoría de los casos la reconstrucción quirúrgica se puede realizar en el primer año de vida, en un solo tiempo. Las niñas diagnosticadas tardíamente necesitarán un abordaje individualizado valorando implicaciones médicas, psicológicas, familiares y sociales. Además, se aconseja que el tratamiento de la 21OHD se realice en Centros de Referencia, con el objetivo de conseguir mejores resultados a largo plazo y mejor calidad de vida de las personas afectas.

Algunos aspectos que deben diferenciarse dentro de la 21OHD son la “identidad de género”, el “rol de género” y la “orientación sexual”¹⁶⁹. Las mujeres con 21OHD con alto grado de virilización al nacimiento muestran mayor frecuencia de disforia de género que el resto de pacientes con 21OHD, así como de rol de género y de orientación sexual. Tienen también una función ovárica más pobre con fertilidad reducida y presentan peores resultados cosméticos y funcionales de la cirugía.

- ✓ Disforia de género se define como la percepción de dificultad o rechazo que tiene una persona respecto a ser hombre o mujer. En las niñas con 21OHD la disforia de género es baja, estimándose en un 5.2%¹⁷⁰. Se estima que se da en población general en el 0.005-0.014% de los adultos que nacen varones y en el 0.002-0.003% de los adultos que nacen mujer (American Psychiatric Association, 2013). Se relaciona con la exposición prenatal a andrógenos. En los casos excepcionales de 21OHD forma clásica 46,XX con asignación al sexo masculino la disforia de género aumenta a un 12.1%. Debemos considerar que en el caso de optar por la asignación masculina se requeriría gonadectomía y se perdería fertilidad.
- ✓ Rol o comportamiento de género se refiere al comportamiento que adopta una persona respecto a los marcadores culturales de la masculinidad o feminidad (compañeros de juegos, juguetes, juegos de rol, tipo de trabajo, deportes, etc.). En la 21OHD las mujeres con mayor frecuencia realizan trabajos que desarrollan generalmente varones (se incluyen <25% de las mujeres): 30% en 21OHD vs 13% población control; deportes más rudos: 74% en 21OHD vs 50% controles, etc.
- ✓ Orientación sexual: el 19% de las mujeres con 21OHD presentan orientación homosexual o bisexual; siendo más prevalente en los genotipos con mutaciones más severas, y por ende con mayor grado de androgenización durante la vida fetal¹⁷¹. La

estimación en población general de orientación homosexual es 4.5-10.7% de varones y en 2.1-3.6% de mujeres en USA, Reino Unido y Francia¹⁷².

Debe reseñarse que el manejo quirúrgico y terapéutico de las pacientes 21OHD se ha modificado considerablemente y que las complicaciones/dificultades de estas pacientes, ahora adultas, pueden no ser representativas de las niñas 21OHD nacidas actualmente.

Existen estudios publicados sobre identidad de género en el grupo de pacientes con 21OHD 46,XX y hay dos posicionamientos sobre cómo actuar en cuanto a la asignación de género en estos casos. En un extremo están los autores que proponen que la 21OHD abandone la clasificación de DSD porque estas pacientes no presentan problemas de identidad de género¹⁷³ y en el otro, y aunque en general la disforia de género es poco frecuente en pacientes con 21OHD 46,XX, se plantea como una opción adecuada la asignación al género masculino cuando el grado de virilización al nacimiento es muy severo¹⁷⁴.

Los autores de este último trabajo defienden esta propuesta porque los pacientes en edad adulta asignados al género masculino tanto en la infancia como en el periodo neonatal pueden tener una actividad sexual satisfactoria con tasas altas de identidad de género masculina y orientación sexual hacia mujeres. Debemos considerar, sin embargo, que en el caso de optar por la asignación masculina se requeriría gonadectomía y se perdería fertilidad.

La adaptación psicosexual es buena aunque diversos estudios muestran una calidad de vida disminuida¹²³⁻¹²⁶. El estudio de Mulaikal et al¹²⁷ realizado en un grupo de 80 pacientes, demostró que un 75% de los pacientes eran heterosexuales, un 2% eran homosexuales y un 23% no tenían actividad sexual. En los estudios de Ehrhardt et al¹²⁸ en un grupo de 17 niñas, un 35% deseaban pertenecer al otro sexo.

Nordenskjöld et al realizó un estudio en Suecia reportando los siguientes datos: 45% de las pacientes estaban casadas o tenían parejas heterosexuales frente al 68% de los controles. El 74% nunca se habían embarazado y el 76% no tenían hijos. Referían heterosexualidad el 80% vs el 98% de los controles.

En estudios de experimentación realizados en ratas machos y hembras con tratamientos hormonales durante la gestación, se producen cambios en el cerebro que se traducen en importantes cambios en la conducta sexual^{129,175}. Los estudios de McGinley et al¹⁷⁶ demostraron que, la diferenciación psicosexual no era tan sólo un reflejo de la educación e influjos sociales como se creía, sino que la mayor frecuencia de homosexualidad encontrada

en las pacientes con 21OHD podría ser debida al efecto de la exposición intrauterina del cerebro femenino a valores elevados de andrógenos¹⁷⁷.

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2.1. Justificación

En los últimos treinta años se han producido avances importantes, tanto diagnósticos como terapéuticos, que han permitido disminuir notablemente la morbimortalidad de pacientes con 21OHD.

En la etapa previa al cribado neonatal, los pacientes con 21OHD eran diagnosticados en función de los síntomas, por lo que el diagnóstico era tardío y la morbimortalidad elevada. La mayoría de los estudios indican que los neonatos debutan con clínica en las primeras semanas de vida sin especificar el momento de inicio de la sintomatología de las crisis suprarrenales de las formas con pérdida salina^{90,178-183}. Khalid et al señala el inicio de los síntomas de pérdida salina a los 15 días de vida del recién nacido tanto para hombres como mujeres (con un intervalo de 13-16 días)¹⁸⁴, mientras que el grupo de Hird describe una mediana de 13 días de vida (intervalo: 6-39 días) para el diagnóstico clínico en varones¹⁸⁵. La forma pierde sal de la enfermedad es potencialmente letal, alcanza una mortalidad del 4 al 11,9% por crisis suprarrenales entre los neonatos no diagnosticados^{90,186}. Estas crisis aparecen habitualmente cuando el recién nacido ya está en su domicilio, siendo los varones afectados los que presentan un mayor riesgo al no suscitar sospecha por no presentar genitales ambiguos.

El diagnóstico y tratamiento precoz es crucial para prevenir estas crisis que pueden amenazar la vida y tener secuelas irreversibles como discapacidad intelectual por daños cerebrales secundarios a la hiponatremia. Los Programas de Cribado Neonatal de 21OHD han permitido el diagnóstico precoz de la forma clásica con pérdida salina (antes de su expresión clínica) favoreciendo que la edad de inicio de tratamiento sea cada vez más temprana, de modo que se puede prevenir la crisis suprarrenal y por tanto la mortalidad y morbilidad derivada de la propia patología así como acortar el tiempo de asignación incorrecta de sexo al nacimiento.

Los programas de detección precoz de 21OHD en los recién nacidos se introdujeron en 1974. La detección precoz de 21OHD está recomendada internacionalmente con un nivel de evidencia 1/++. Sin embargo, en España el cribado neonatal de HSC por 21OHD cubre solamente 1/3 de los recién nacidos¹⁸⁷ y se realiza únicamente en cinco Centros de Detección (Madrid, Zaragoza, Valladolid, Talavera de la Reina y Badajoz). La primera Comunidad

Autónoma en incorporarla fue la Comunidad de Madrid en el año 1990. En ese mismo año, se formó la Unidad Clínica de diagnóstico y seguimiento de estos pacientes en el Hospital Materno Infantil Gregorio Marañón.

El manejo de la 21OHD no es sencillo y varía ampliamente dependiendo, además, de la edad. El tratamiento se sustenta en:

1. Reemplazar la secreción fisiológica de los glucocorticoides y mineralcorticoides para evitar la pérdida salina.
2. Frenar el estímulo del ACTH para evitar el hiperandrogenismo suprarrenal subyacente con la dosis mínima de glucocorticoides posible.
3. Corrección quirúrgica de los genitales virilizados de las mujeres afectas.

El tratamiento se basa en la terapia sustitutiva con glucocorticoides y si son perdedores de sal también con mineralcorticoides, durante toda la vida.

El mismo paciente puede estar sujeto a períodos de infradosificación y sobredosificación a lo largo del día:

- Un tratamiento insuficiente llevaría a un fallo de medro (por depleción crónica de los niveles de sodio) y a un hiperandrogenismo, con posible afectación del crecimiento y pseudopubertad precoz, alteraciones del desarrollo gonadal, de la fertilidad y de la mineralización ósea.
- Una dosis suprafisiológica del glucocorticoides produce síndrome de Cushing iatrogénico que puede afectar al crecimiento, a la masa ósea y causar alteraciones metabólicas.

A lo largo del crecimiento existen dos períodos críticos que complican el tratamiento de estos pacientes:

- En la primera infancia existe riesgo de hiperdosificación derivado de que los pacientes precisan dosis mayores de hidrocortisona para evitar el fallo de medro que ocasionan dosis más bajas y porque los procesos intercurrentes son más frecuentes en los primeros años de vida.
- En la pubertad acontecen cambios hormonales que favorecen el desarrollo de hipocortisolismo e hiperandrogenismo inadecuadamente controlado, lo que hace que

en estas dos etapas la optimización terapéutica sea clave para conseguir un crecimiento y desarrollo adecuados.

Las características de la propia enfermedad y las consecuencias derivadas del tratamiento crónico pueden repercutir en los pacientes durante el crecimiento y la edad adulta. Surge entonces una intensa búsqueda de la optimización terapéutica de estos pacientes, con el objetivo de que alcancen un desarrollo somático normal. Los principales aspectos que se mejoraron fue el inicio cada vez más temprano del tratamiento gracias a la implantación de los Programas de Cribado y el uso de dosis más bajas empleadas actualmente frente a las dosis altas de corticoides utilizadas anteriormente, así como la monitorización estrecha de los pacientes durante los primeros años de vida, para evitar tanto la infradosificación como la sobredosificación del tratamiento sustitutivo.

El presente trabajo describe los aspectos diagnósticos y terapéuticos de los pacientes afectos por formas clásicas de 21OHD y su evolución a largo plazo.

2.2. Hipótesis

La instauración de un diagnóstico precoz y de un tratamiento temprano en niños con 21OHD puede evitar las crisis de pérdida salina, acortar el tiempo de asignación incorrecta de sexo al nacimiento y mejorar el desarrollo somático.

Las dosis de hidrocortisona empleadas pueden influir en el crecimiento somático en los primeros años de la vida y en la edad adulta.

2.3. Objetivos

2.3.1. Objetivo principal

- Describir las características clínicas, analíticas y genéticas de los pacientes con HSC por 21OHD detectados mediante el Programa de Cribado Neonatal.
- Evaluar comparativamente las dosis de hidrocortisona y fludrocortisona recibidas en las formas clásicas de 21OHD y correlacionarlas con la auxología presentada por los pacientes en los 3 primeros años de vida, la pubertad y la edad adulta.

2.3.2. Objetivos secundarios

- Analizar la auxología de los pacientes con formas clásicas por 21OHD en los 3 primeros años de vida, la pubertad y la edad adulta.

- Correlacionar el crecimiento en los tres primeros años de vida con la talla adulta.
- Comparar la talla adulta alcanzada respecto a su potencial genético.
- Correlacionar el tratamiento con la maduración ósea.
- Evaluar comparativamente la evolución de las concentraciones circulantes de andrógenos suprarrenales en las formas clásicas de 21OHD desde el período neonatal hasta la edad adulta.
- Correlacionar el tratamiento con el desarrollo de sobrepeso/obesidad en nuestra cohorte.

3. SUJETOS, PACIENTES Y MÉTODOS

3. SUJETOS, PACIENTES Y MÉTODOS

3.1. Diseño y población de estudio

3.1.1. Diseño del estudio

Se diseñó un estudio descriptivo observacional de carácter retrospectivo.

3.1.2. Población de estudio

La población de estudio fue la cohorte de los pacientes con HSC por 21OHD seguidos en la Unidad Clínica de diagnóstico y seguimiento del Hospital General Universitario Gregorio Marañón (HGUGM) del año 1990 a 2015.

3.1.3. Selección de pacientes

3.1.3.a. Criterios de inclusión

- ✓ Recién nacidos detectados por el Programa de Detección Precoz de 21OHD de la Comunidad de Madrid en el período entre 1990-2015.
- ✓ Pacientes con 21OHD seguidos en la Unidad Clínica de Diagnóstico y Seguimiento del HGUGM.

3.1.3.b. Criterios de exclusión

- ✓ Recién nacidos detectados por el Programa de Detección Precoz de la Comunidad de Madrid de formas clásicas de 21OHD seguidos en otros centros.
- ✓ Recién nacidos con elevación de 17-OHP detectados por el Programa de Detección Precoz de la Comunidad de Madrid sin confirmar defecto de 21OHD.

3.1.4. Variables de estudio

Las variables cuantitativas continuas recogidas fueron:

- Edad (meses).
- Peso (kg) y talla (cm). Z-score de peso y talla.
- Velocidad de crecimiento (cm/año).
- Índice de masa corporal (kg/m^2). Sobrepeso definido por $\text{IMC} > 1\text{DE}$ y obesidad definida por $\text{IMC} > 2\text{DE}$.
- Dosis de hidrocortisona ($\text{mg}/\text{m}^2/\text{día}$).

- Dosis de 9 α -fluorhidrocortisona (mg/día).
- Dosis de cloruro sódico (mEq/kg/día).
- Valores de glucemia (mg/dl), sodio (mmol/L), potasio (mmol/L) y pH.
- Valores de 17-OHP en papel de filtro (nmol/L) y en suero (ng/ml).
- Valores ARP (μ g/L/h), androstendiona (μ g/dl), testosterona (ng/ml), ACTH (ng/L), aldosterona (ng/L) y DHEAS (μ g/dl).
- Valores de TSH (mUI/L), T4 libre (ng/dl), IGF-1 (μ g/L), IGFBP-3 (mg/L), insulina (mUI/L) y HbA1c (% Hb total).
- Edad ósea (años) según atlas Greulich y Pyle¹⁸⁸. Z-score de edad ósea.
- Antecedentes perinatales: edad gestacional (semanas), peso (gramos) y longitud al nacimiento (cm). Z-score de peso y talla ajustado para la edad gestacional y sexo según las tablas de Crecimiento de 1988¹⁸⁹.
- Antecedentes familiares: Talla genética (cm). Z-score de talla genética según las tablas de Crecimiento de 1988¹⁸⁹.
- Número de descompensaciones de la enfermedad.
- Número de revisiones realizadas (consultas/año).
- Datos relativos al tratamiento quirúrgico en las niñas: edad, número de intervenciones requeridas.
- Edad inicio puberal (años).
- Edad a la que se alcanzó la talla adulta (años).

Las variables cualitativas fueron:

- Tipo de forma clásica de 21OHD (con pérdida salina o virilizante simple).
- Sexo asignado inicialmente y tras confirmación diagnóstica.
- Genotipo.
- Tipo de parto.
- Antecedentes familiares: consanguinidad, familiares con 21OHD, historia de abortos previos o recién nacidos fallecidos de causa desconocida.
- Datos relativos al tratamiento quirúrgico en las niñas.

- Patología renal asociada.

3.2. Pacientes y métodos

3.2.1. Funcionamiento del Programa de Detección Precoz de HSC y la Unidad de Diagnóstico y Seguimiento de la Comunidad de Madrid

El Programa de Detección Precoz de 21OHD de la Comunidad de Madrid se centraliza en el Laboratorio de Cribado Neonatal del HGUGM. La sección de Endocrinología Pediátrica de este Hospital compone la Unidad Clínica de Diagnóstico y Seguimiento de esta enfermedad, trabajando en coordinación con otros Servicios:

- Servicio de Neonatología
- Servicio de Bioquímica. Laboratorio de hormonas.
- Laboratorio de Genética Molecular
- Servicio de Cirugía Infantil Genitourológica
- Servicio de Radiodiagnóstico Pediátrico (ecografía, genitografía, resonancia magnética)
- Servicio de Urgencia de Pediatría

3.2.1.a. Procedimiento para la detección precoz y localización de los pacientes

El marcador primario es la cuantificación de 17-OHP en sangre capilar recogida en papel absorbente a las 48 horas de vida del recién nacido.

Para recoger la muestra de sangre hay que utilizar la parte derecha de la tarjeta (figura 9) y rellenar todos los datos del formulario. La extracción de las muestras de sangre se realiza sobre papel absorbente (PerkinElmer 226, según las normas del *National Committee for Clinical Laboratory Standards*), de forma estandarizada¹⁹⁰. Los pasos a seguir en la recogida de la muestra son: calentar la zona del talón antes de pinchar, limpiar el área con alcohol y dejar evaporar, realizar punción en el talón con lanceta estéril, limpiar la primera gota de sangre con una gasa estéril, dejar que se forme otra gota de sangre, tocar la gota de sangre levemente con el papel y dejar que la sangre se absorba, evitando que el papel toque el talón, llenar por completo cada círculo con una única aplicación de sangre que traspase al otro lado del papel absorbente y rellenar todos los círculos por aproximación del papel absorbente a la

gota de sangre. Cada círculo debe impregnarse con una sola gota de sangre, así se asegura una distribución homogénea de los hematíes y del plasma en el soporte de papel. Posteriormente, la tarjeta debe secarse en posición horizontal, a temperatura ambiente (15-22°C), antes de ser remitida al Laboratorio de Metaboloopatías.

PerkinElmer 226 | 2020-06-30 | Abstron | LOT 110092 / 417407

PerkinElmer 226 | 2020-06-30 | Abstron | LOT 110092 / 417407

FENILALANINA y CRIBADO AMPLIADO (Otras Enzimas Congénitas del Metabolismo de aminoácidos, ácidos grasos y ácidos orgánicos)

HIPOTIROSIDISMO CONGÉNITO, HÍPERPLASIA SUPRARRENAL, DREPANOCITOSIS y FIBROSIS QUÍSTICA

Nº Registro entrada en el laboratorio: 1700150001

CONSEJERÍA DE SANIDAD. SERVICIO MADRILEÑO DE SALUD

Hospital nacimiento: 1001

DATOS DEL RECIÉN NACIDO (Rellene con Mayúsculas)

Nombre: _____ 1º Apellido: _____

2º Apellido: _____ Fecha Nacimiento: _____ Peso (g): _____ Semanas Gestación: _____

Sexo: Masculino Femenino Gemelar: SI NO Trilízis: SI NO Tipo de Parto: Vaginal Cesárea

Transfusión: SI NO Fecha: _____ Materna: Artificial: Parenteral: Medicamentos: SI NO Ileo Meconial: SI NO

Observaciones: _____

Muestra **NO** válida por: Decisión: _____ Muestra **NO** válida por: Decisión: _____

F Análisis: Análisis: _____ Valor: _____ F Análisis: Análisis: _____ Valor: _____

F Análisis: Análisis: _____ Valor: _____ F Análisis: Análisis: _____ Valor: _____

Observaciones: _____

Laboratorio Cribado Neonatal. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. c/ Doctor Esquerdo, 46. 28007 Madrid. Telf.: 91 586 8828 - 91 586 8237

DATOS DE LA MADRE (Rellene con Mayúsculas)

Nombre: _____ 1º Apellido: _____

2º Apellido: _____ Edad (años): _____ Municipio: _____

Dirección: calle, número, bloque, portal, escalera, planta, puerta _____ Código Postal: _____

Provincia: _____

País de procedencia de la Madre: _____ del Padre: _____

AUTORIZACIÓN: Después de haber sido informado, y recibido el documento "Detección precoz de enfermedades endocrino metabólicas en recién nacidos de la Comunidad de Madrid", yo madre/padre/tutor del recién nacido _____, autorizo a realizar las pruebas de Cribado Neonatal incluidas en el programa y si fuera necesario las pruebas genéticas moleculares de las mutaciones más frecuentes del gen de la fibrosis quística.

Firmado: _____

INSTRUCCIONES PARA RECOGER MUESTRAS DE SANGRE VÁLIDAS
No tocar los círculos con los dedos. No usar la tarjeta si está dañada.
REALIZAR UNA ÚNICA EXTRACCIÓN A PARTIR DE 48 hr DE VIDA

- Usar la lanceta adjunta
- Pinchar en la zona del tatin sombreada
- Esperar que se forme una gran gota de sangre

BIEN **MAL**

INFORMACIÓN: Se facilita la información al respecto mediante la entrega del documento "Detección precoz de enfermedades endocrino metabólicas en recién nacidos de la Comunidad de Madrid". La autorización para la realización de la prueba se efectúa al firmar en la Ley 14/2007 de 3 de julio de Investigación Biomédica. Las tarjetas con las muestras de sangre realizadas de su hijo/a, se almacenarán durante 5 años. Una vez transcurrido este período se procederá a su destrucción. Los datos personales recogidos serán incorporados e incluidos en el futuro "Sistema de Información de Salud Pública y Alimentación-SISPAC", cuya finalidad es la prevención de la enfermedad en salud pública. El órgano responsable del fichero es la Dirección General de Atención Primaria de la Comunidad de Madrid y la dirección donde el interesado podrá ejercer sus derechos de

Figura 9. Tarjeta de toma de muestras

Los valores de 17-OHP varían según sexo, edad gestacional y peso al nacimiento por eso cada laboratorio debe establecer sus propios valores de normalidad y estratificarlos según estos criterios (tablas 3-6). Se consideran patológicos valores superiores al percentil 99. En recién nacidos a término de peso adecuado para la edad gestacional, este valor se estima en torno a 15 nmol/L (13 nmol/L en varones y 12,10 nmol/L en mujeres de 40 semanas de EG) y en recién nacidos pretérmino en torno a 30 nmol/L (29,60 nmol/L en varones y 30,60 nmol/L en mujeres de 36 semanas de EG).

Tamaño muestral: 64.727 niños				
EG	[17-OHP]	[17-OHP]	[17-OHP]	[17-OHP]
	Mediana	P95	P97,5	P99
≤30	38,45			100,00
31-33	16,35	47,52	55,42	71,86
34	13,40	34,93	49,57	56,31
35	10,80	29,01	34,45	40,23
36	8,53	22,10	25,79	29,60
37	7,28	16,17	19,33	22,71
38	6,32	12,60	14,58	18,83
39	5,59	11,00	12,80	14,88
40	5,16	9,92	11,20	13,00
>40	4,93	9,87	11,30	12,80

Tabla 3. Puntos de corte por edad gestacional (EG) para 17-OHP (nmol/L en sangre) en varones del Laboratorio de Cribado Neonatal del HGUGM.

Tamaño muestral: 64.727 niños				
Peso (g)	[17-OHP]	[17-OHP]	[17-OHP]	[17-OHP]
	Mediana	P95	P97,5	P99
≤1500	33,55			100,00
1501-2000	13,70	49,00	64,45	73,48
2001-2500	8,85	27,54	32,72	43,07
>2500	5,61	11,90	14,09	17,67

Tabla 4. Puntos de corte por peso al nacimiento (g) para 17-OHP (nmol/L en sangre) en varones del Laboratorio de Cribado Neonatal del HGUGM.

Tamaño muestral: 61.831 niñas				
EG	[17-OHP]	[17-OHP]	[17-OHP]	[17-OHP]
	Mediana	P95	P97,5	P99
≤30	33,40			100,00
31-33	15,20	52,55	58,74	69,28
34	12,50	35,68	43,80	69,40
35	10,00	26,55	29,50	38,90
36	7,68	19,38	25,02	30,60
37	6,60	13,90	16,60	20,94
38	5,62	11,30	12,90	15,46
39	4,89	9,62	10,90	13,28
40	4,49	8,95	10,20	12,10
>40	4,27	8,57	9,81	11,20

Tabla 5. Puntos de corte por edad gestacional (EG) para 17-OHP (nmol/L en sangre) en mujeres del Laboratorio de Cribado Neonatal del HGUGM.

Tamaño muestral: 64.727 niños				
Peso (g)	[17-OHP]	[17-OHP]	[17-OHP]	[17-OHP]
	Mediana	P95	P97,5	P99
≤1500	27,00			100,00
1501-2000	11,50	43,68	50,06	59,73
2001-2500	6,94	20,70	28,22	35,84
>2500	4,89	10,30	12,10	15,09

Tabla 6. Puntos de corte por peso al nacimiento (g) para 17-OHP (nmol/L en sangre) en mujeres del Laboratorio de Cribado Neonatal del HGUGM.

A los neonatos que presentan un resultado considerado positivo se les contacta telefónicamente desde el Laboratorio de Detección, para que acudan a la Unidad Clínica de Diagnóstico y Seguimiento para ser valorados ese mismo día (figura 10).

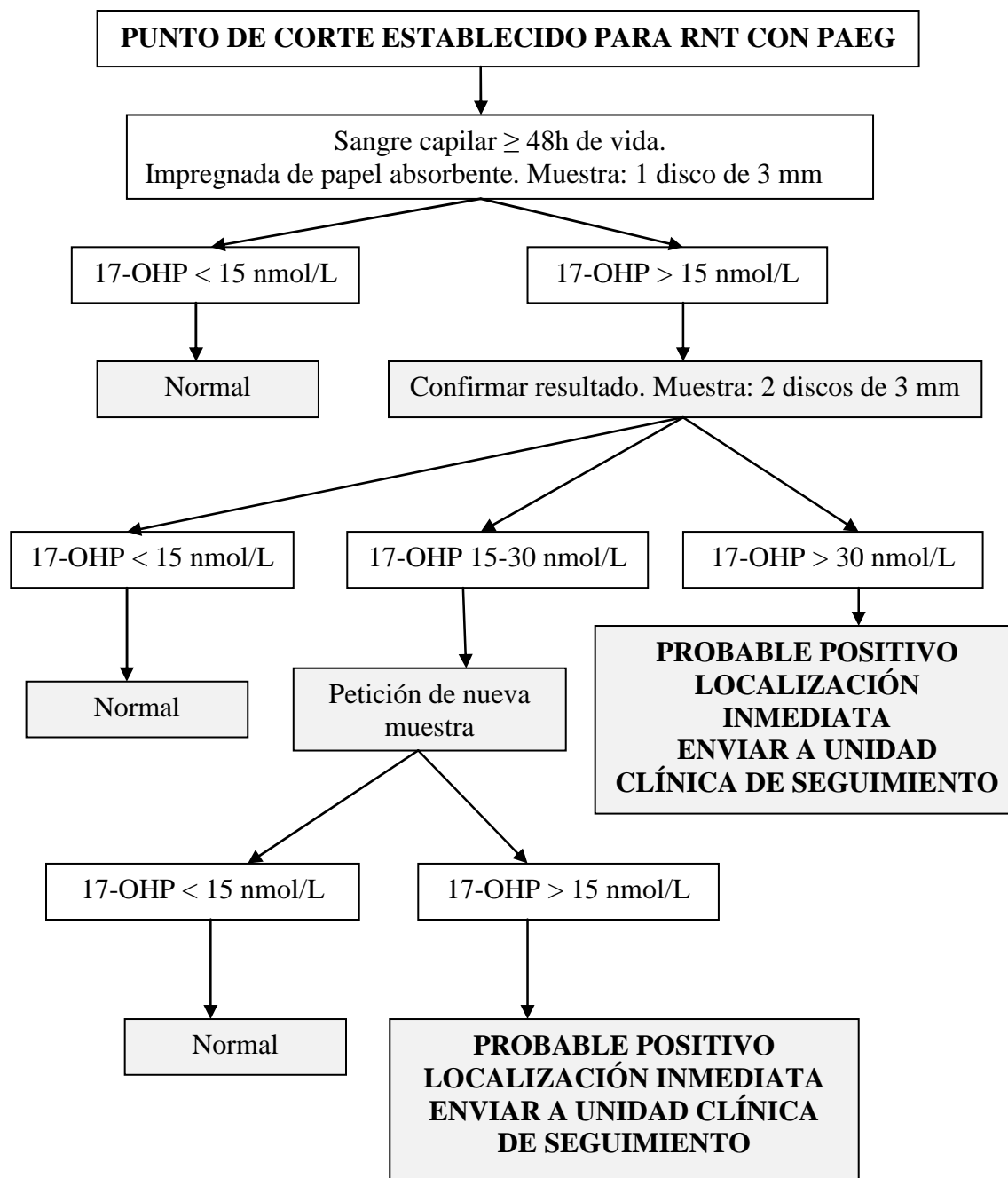


Figura 10. Algoritmo de actuación del Laboratorio de Detección Precoz.
RNT: Recién nacido a término. PAEG: peso adecuado a la edad gestacional

3.2.1.b. Evaluación y seguimiento de los pacientes con resultado positivo en el programa de cribado

En la Unidad Clínica de Seguimiento (figura 11) se realiza una valoración del paciente y analítica urgente. En esta primera visita se realiza una historia clínica completa, personal y familiar. En ella se recogen datos relativos al embarazo, edad gestacional, parto, tipo de alimentación, peso al nacimiento, período neonatal, medicación concomitante y existencia de alguna patología. Se valora la ganancia ponderal en base a identificar una

posible pérdida salina. Además, se realiza historia sobre concepción (infertilidad, abortos previos o muertes prematuras), y se recogen los antecedentes familiares: etnia, consanguinidad, edad de inicio puberal, menarquia y talla de ambos progenitores.

A continuación se lleva a cabo una exploración física rigurosa del recién nacido. Se valora el estado general del niño, peso, talla, hidratación, pigmentación y exploración genital (en niñas, estadificación de Prader -figura 12- y en niños, medición del pene y palpación de testículos).

Posteriormente se realiza la extracción de muestras de sangre periférica en la que se incluye equilibrio ácido-base, iones (sodio, potasio), glucosa, función renal (urea y creatinina) que son tramitados de forma urgente para valorar la necesidad de ingreso en la Unidad Neonatal. También se extrae muestra para determinación hormonal: 17-OHP (en sangre venosa y en tarjeta de papel absorbente que se envía al Laboratorio de Cribado Neonatal), DHEAS, testosterona, aldosterona, ARP. En caso de ambigüedad genital se extrae muestra para FISH (resultados en días) y cariotipo (resultados en semanas).

A todos los pacientes se les realiza estudio genético molecular para 21OHD (resultados en semanas).

En función de la exploración clínica y analítica así como los antecedentes y condiciones sociales se establece la necesidad de ingreso y de iniciar tratamiento o se establece un estrecho seguimiento clínico ambulatorio.

El diagnóstico de confirmación se realiza por las determinaciones hormonales y analíticas y la realización de técnicas de diagnóstico molecular y de imagen.

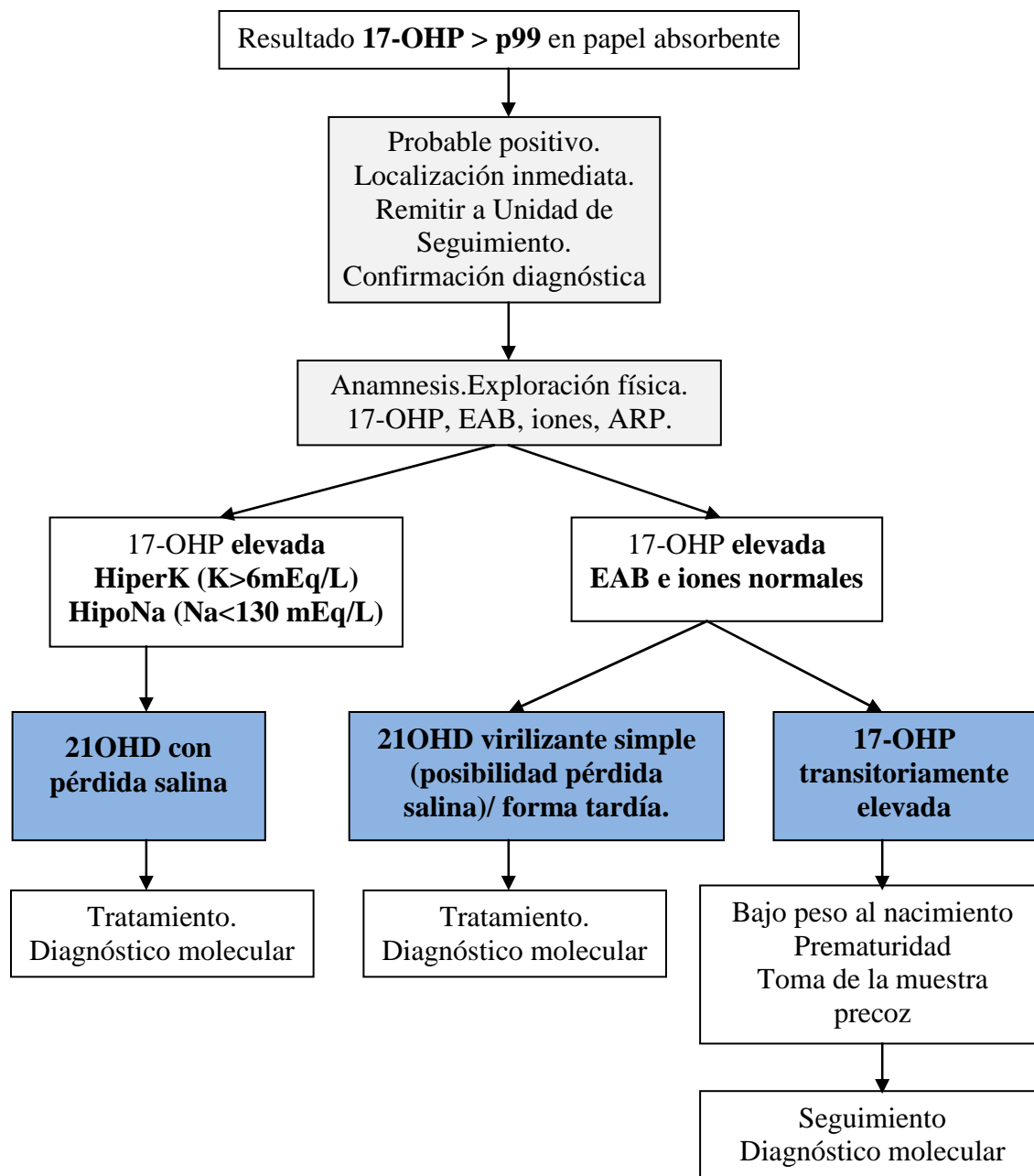


Figura 11. Algoritmo de actuación en la Unidad Clínica de Diagnóstico y Seguimiento.

Según cuál sea el estado de salud del recién nacido y la sospecha diagnóstica, el protocolo a seguir varía:

- a) Recién nacido con sospecha de pérdida salina: ingresa en la Unidad Neonatal con determinaciones cada 8 horas de iones, tensión arterial, diuresis, control de alimentación y de peso.

En varones y en mujeres se inicia tratamiento médico con hidrocortisona (25mg/6-8 horas), 9 α -fluorhidrocortisona (0,05 mg/12 horas), cloruro sódico (4-5 mEq/kg/día) y

sueroterapia según el grado de deshidratación (al menos necesidades basales). En las mujeres además, el Servicio de Cirugía Pediátrica realiza una valoración inicial de los genitales. A lo largo del seguimiento, se llevarán a cabo pruebas de imagen (ecografía y genitografía) en base a establecer la necesidad de tratamiento quirúrgico. En algunos casos es preciso llevar a cabo la reasignación legal del sexo.

- b) Recién nacido sin sospecha de pérdida salina: seguimiento ambulatorio en Consultas externas de la Unidad de Metabolismo Infantil. Se informa a la familia sobre las posibilidades diagnósticas: forma virilizante simple o elevación transitoria de 17-OHP. La siguiente revisión se realiza en 2-3 días, con extracción de 17-OHP. Se establece una frecuencia de consultas a los 15 días, al mes y mensualmente hasta normalización de los valores de 17-OHP. En caso de no normalizarse las cifras de 17-OHP y confirmación genética de forma virilizante simple, se inicia tratamiento con hidrocortisona ($20\text{mg}/\text{m}^2/\text{día}$ en 3 dosis). Si ARP elevada se asocia 9α -fluorhidrocortisona. El seguimiento posterior de los pacientes con formas virilizantes simples es similar al de la forma pierde sal.

El plan de seguimiento para todas las formas clásicas de 21OHD (pierde sal y virilizante simple) es revisión mensual hasta los 6 meses de edad, bimensual hasta los 18 meses y trimestral hasta la adolescencia y después semestralmente. En cada revisión, se lleva a cabo la exploración física con medición de peso, talla, velocidad de crecimiento, toma de tensión arterial y analítica si precisa (iones y hormonas). Las determinaciones hormonales se realizan, al menos, cada 6-12 meses. En cada consulta, se ajusta el tratamiento según las necesidades y se facilita información continua a las familias.

En las niñas que precisen corrección quirúrgica, ésta se realizará en torno a los 10-12 meses de edad, con una posterior reevaluación quirúrgica peripuberal a los 10-12 años.

A partir de los 24 meses se solicita edad ósea anual. A partir de los 12 años, ecografía abdominal cada 5 años y en varones, a partir de los 10 años, ecografía testicular cada 3-5 años.

3.2.2. Momentos de este estudio

- 1) Al diagnóstico (visita inicial, período de hospitalización si lo hubo y primera visita en Consultas Externas tras el alta hospitalaria). En ella constan los datos referentes a la forma de diagnóstico (cribado neonatal o sospecha clínica), así como los datos relativos a la situación

clínica del paciente, los hallazgos analíticos y el manejo terapéutico. Además se recogieron los antecedentes perinatales y familiares.

2) A los 3 meses. Se recoge la somatometría (peso y talla), datos relativos a la evolución clínica, dosis de tratamiento (hidrocortisona, 9 α -fluorhidrocortisona y cloruro sódico), momento en el que la hidrocortisona pasó a dosis de mantenimiento (20-25mg/m²/día), valores hormonales (17-OHP, DHEAS, testosterona, androstendiona, aldosterona y ARP), resultados del estudio genético-molecular del paciente y su familia.

3) A los 6 meses. Datos relativos a la somatometría (peso y talla), dosis de tratamiento (hidrocortisona, 9 α -fluorhidrocortisona y cloruro sódico), valores hormonales (17-OHP, DHEAS, testosterona, androstendiona, aldosterona y ARP), velocidad de crecimiento en los 6 primeros meses de vida.

4) A los 12 meses. Datos relativos a la somatometría (peso y talla), dosis de tratamiento (hidrocortisona y 9 α -fluorhidrocortisona), valores hormonales (17-OHP, DHEAS, testosterona, androstendiona, aldosterona y ARP), velocidad de crecimiento en el primer año de vida, edad ósea y número de consultas realizadas durante el primer año.

5) A los 24 meses. Datos relativos a la somatometría (peso y talla), dosis de tratamiento (hidrocortisona y 9 α -fluorhidrocortisona), valores hormonales (17-OHP, DHEAS, testosterona, androstendiona, aldosterona y ARP), velocidad de crecimiento en el 2º año de vida, edad ósea y número de consultas realizadas durante el 2º año. En las niñas, se recogieron datos relativos a la cirugía de corrección quirúrgica.

6) A los 36 meses. Datos relativos a la somatometría (peso y talla), dosis de tratamiento (hidrocortisona y 9 α -fluorhidrocortisona), valores hormonales (17-OHP, DHEAS, testosterona, androstendiona, aldosterona y ARP), velocidad de crecimiento en el 3^{er} año de vida, edad ósea, coexistencia de patología renal y número de consultas realizadas durante el 3º año. Además se recogió el número de descompensaciones clínicas presentadas en los tres primeros años de vida, diferenciando las que precisaron asistencia en el Hospital de Día o ingreso hospitalario así como la causa desencadenante. No se incluye como descompensación aquellos pacientes que precisaron duplicar dosis de hidrocortisona por procesos intercurrentes.

7) Durante el período puberal. Datos relativos a la somatometría (peso y talla), momento en el que se inició la pubertad, pubarquia y axilarquia, edad de menarquia, dosis de tratamiento (hidrocortisona y 9 α -fluorhidrocortisona), valores hormonales (17-OHP,

DHEAS, testosterona, androstendiona, aldosterona, ARP, IGF1, IGFBP3, TSH y T4 libre) y edad ósea.

8) Al alcanzar la talla adulta. Datos relativos a la somatometría (peso, talla e IMC), ganancia de talla durante el estirón puberal, diferencia entre talla adulta y talla genética, dosis actual de tratamiento (hidrocortisona y 9 α -fluorhidrocortisona), valores hormonales (17-OHP, insulina y HbA1c).

3.2.3. Recogida de datos

La recogida de datos se realizó de forma retrospectiva, mediante la revisión de las historias clínicas de los pacientes, completando la hoja de recogida de datos.

3.2.3.a. Registro y transformación de parámetros clínicos

1. Edad cronológica (EC): se transformó a expresión decimal para su empleo estadístico.
2. Edad gestacional (EG): se determinó a partir de la fecha de la última menstruación, con posterior confirmación ecográfica, para transformarse en expresión decimal para su empleo estadístico.
3. Edad ósea (EO): todas las edades óseas fueron valoradas por radiólogos expertos según el método de Greulich y Pyle (G&P)¹⁸⁸. Posteriormente, su valor fue transformado a expresión decimal para su empleo estadístico.
4. Antecedentes perinatales: se recogieron datos sobre embarazo (controlado o no), tipo de parto (eutócico, instrumental o cesárea), peso y talla ajustado para la edad gestacional y sexo según las tablas de Delgado Beltrán. También datos relativos a existencia de otras patologías tanto maternas como en el recién nacido y necesidad de tratamiento con corticoides durante la gestación.
5. Antecedentes familiares: se registraron la talla del padre y la madre, existencia de consanguinidad, infertilidad, historia de abortos o muertes prematuras, presencia de otras patologías en los progenitores o antecedentes de 21OHD en la familia
6. Método de diagnóstico: todos los pacientes fueron diagnosticados mediante cribado neonatal, a excepción de 3 pacientes en los que el diagnóstico se realizó clínicamente (uno por haber nacido previo a la era del cribado y dos por haber nacido en lugares sin cribado de 21OHD).

7. Peso (kg): en los menores de 10 kg se determinó en una balanza electrónica (Báscula Secca®) con un rango de lectura de 0,1 a 15 kg y una precisión de 10 g. El paciente debe ser colocado en decúbito supino o en sedestación.

En los mayores de 10 kg se empleó la báscula electrónica (Bascula Secca®), con un rango de lectura de 0 a 120 kg y una precisión de 100 g. El paciente se debe colocar en bipedestación.

8. Longitud/ talla (cm): En los menores de 2 años se determinó la longitud vértice-talón mediante tallímetro rígido no extensible en posición horizontal. La medición se realizó con el paciente en decúbito supino sobre la tabla horizontal, con rodillas y caderas extendidas. Precisa dos exploradores, uno colocado a la cabeza del niño y el otro desplaza el soporte móvil hasta los talones del paciente para efectuar la lectura de la medición. El rango de lectura es de 0 a 90 cm con una precisión de 0,5 cm.

En los mayores de 2 años, la talla se registró en bipedestación y empleando un tallímetro de Harpender (Holtain Ltd., Crymmych, Pembrokeshire, Wales, UK). El rango de lectura es de 60 a 210 cm con una precisión de 0,1 cm.

9. Índice de masa corporal (IMC) (kg/m²): Fue calculado empleado la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Peso (kg)}}{\text{Talla (m}^2\text{)}}$$

10. Z-score: los valores de peso, talla/longitud e IMC fueron transformados para su posible valoración estadística a “score standard deviation” (SDS) o valor Z. Para el cálculo del Z-score de peso y talla se utilizaron los patrones de referencia recogidos en las tablas del Estudio de Crecimiento de 1988 (Hernández et al.)¹⁸⁹.

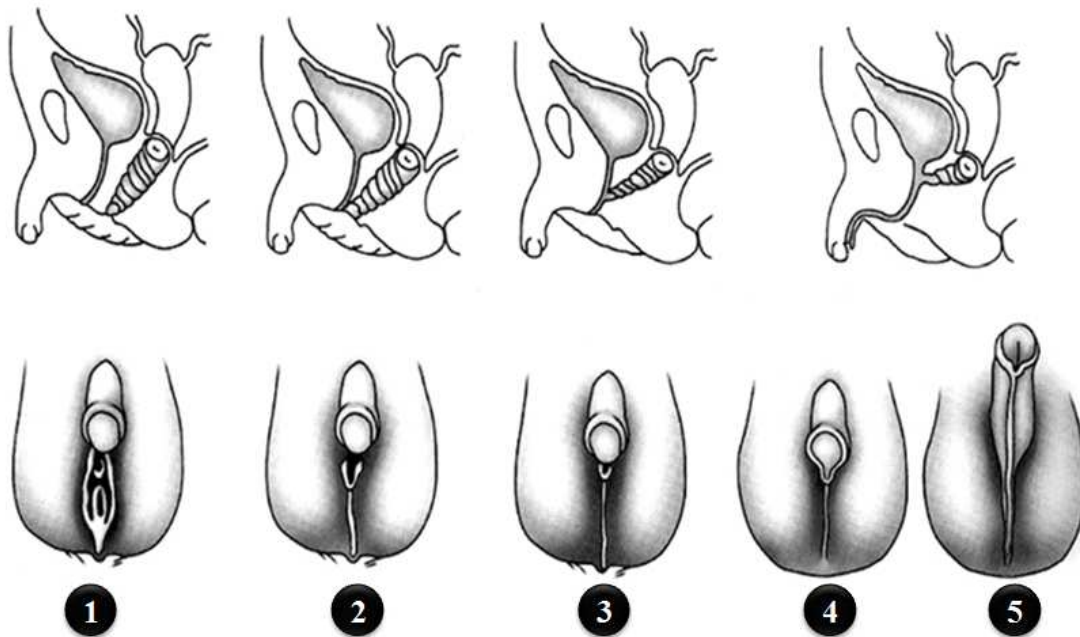
11. Superficie corporal (m²): fue calculada empleando la siguiente fórmula:

$$\sqrt{\frac{\text{Peso (kg)} \times \text{Talla (cm)}}{3600}}$$

12. Edad inicio dosis de mantenimiento de hidrocortisona: se recogió el momento en el que los pacientes comenzaron con dosis de mantenimiento. Se consideran dosis de mantenimiento 20-25 mg/m²/día de hidrocortisona.

13. Grado de virilización: en las mujeres se valoró el grado de virilización al diagnóstico según la clasificación de Prader (figura 12)¹⁹¹.

- Tipo I: genitales completamente femeninos
- Tipo II: hipertrofia simple de clítoris
- Tipo III: hipertrofia de clítoris, fusión de labios mayores y seno urogenital único
- Tipo IV: hipertrofia de clítoris con apariencia de micropene con hipospadias perineal y fusión completa de labios mayores con apariencia escrotal
- Tipo V: hipertrofia de clítoris con meato urinario en punta, apariencia completa de genitales masculinos sin gónadas en bolsa.



Estadios de Prader:

- I. Genitales femeninos
- II. Hipertrofia de clítoris
- III. Hipertrofia de clítoris, fusión de labios mayores y seno urogenital único.
- IV. Hipertrofia de clítoris con hipospadias perineal, fusión de labios mayores con apariencia escrotal.
- V. Hipertrofia de clítoris con meato urinario en punta, apariencia completa de genitales externos masculinos.

Figura 12. Estadios de Prader.

14. **Estadio puberal:** se determinó siguiendo los criterios de Tanner de desarrollo genital y tamaño testicular para varones, y de desarrollo mamario para mujeres¹⁹². La pubertad se inició al alcanzar el estadio de Tanner 2, equivalente en los varones a presentar un volumen testicular de 4 cc según orquidómetro de Prader y en las mujeres botón mamario.

15. Talla diana o talla genética (TD/TG): calculada conforme a la siguiente ecuación:

a) En niños:
$$TD = \frac{\text{Talla padre} + \text{Talla madre} + 13}{2}$$

b) En niñas:
$$TD = \frac{\text{Talla padre} + \text{Talla madre} - 13}{2}$$

16. Z score de la talla diana: el valor de la talla diana se transformó para su posible valoración estadística a desviaciones estándar (DE) o valor Z. Para el cálculo del Z-score de la talla diana se utilizaron los patrones de referencia recogidos en las tablas del Estudio de Crecimiento de 1988 (Hernández et al.)¹⁸⁹.

17. Talla adulta (TA): talla alcanzada con velocidad de crecimiento inferior a 1 cm/año.

18. Z score de la talla diana: el valor de la talla diana se transformó para su posible valoración estadística a “score standard deviation” (SDS) o valor Z. Para el cálculo del Z-score de la talla diana se utilizaron los patrones de referencia recogidos en las tablas del Estudio de Crecimiento de 1988 (Hernández et al.)¹⁸⁹

19. Pronóstico de talla adulta (PTA): calculado mediante el método de Bayley-Pinneau. Correlación entre la edad ósea (Atlas de Greulich-Pyle) y el porcentaje de talla alcanzado. Aplicable a niñas y niños con edad cronológica mayor a 8 años, edad ósea mayor a 6 años y siempre que la edad ósea no difiera en ± 2 años de la cronológica.

3.2.3.b. Dosis de tratamiento

1. Hidrocortisona (mg/m²/día): se calcularon los mg de dosis diaria por m² de superficie corporal en cada visita. La hidrocortisona (Hidroaltesona®) se administra en comprimidos de 20 mg fraccionados, tres veces al día. En caso de precisar dosis menores de 5 mg, la forma farmacéutica empleada son cápsulas elaboradas con la composición precisa. Esta fórmula magistral es elaborada siempre en Farmacia Del Globo (Madrid). Elaboran cápsulas de hidrocortisona (RFE Mon. N° 0335) añadiendo como excipientes maltodextrina (RFE Mon. N° 1542) y riboflavina (RFE Mon. N° 0292). La mezcla se prepara siguiendo el siguiente método:

- Se pesa la cantidad de hidrocortisona necesaria para el número de cápsulas a elaborar según procedimiento de pesada (PN/L/OF/001/00).
- Si la cantidad de hidrocortisona hace necesario el empleo de excipiente, se utiliza una materia colorante como la riboflavina, que está autorizada para la coloración de medicamentos y se emplea en cantidad de 25 mg para 100 cápsulas.

- Se calcula el volumen de excipiente necesario, en función del número de cápsulas a utilizar y de la cantidad a elaborar.
- Se completa el volumen necesario con excipiente inerte (Maltodextrina).
- Se mezcla la hidrocortisona con el excipiente adecuado (Maltodextrina) según el procedimiento de mezclado (PN/L/PO/002/00).

Las cápsulas se entregan en blister o frasco provisto de cierre hermético. En condiciones óptimas de conservación el plazo de validez es de tres meses.

2. 9 α -fluorhidrocortisona (mg/m²/día): se calcularon los mg de dosis diaria por kg de peso en cada visita. Se administra de una a tres dosis al día, en forma de comprimidos fraccionados (Astonín®) de 0,1 mg. Cuando el paciente precisa dosis menores de 0,025 mg, se administra en forma de cápsulas. Las cápsulas son elaboradas siempre en Farmacia Del Globo (Madrid) y están compuestas por fludrocortisona acetato (RFE Mon. N° 0767) añadiendo como excipientes maltodextrina (RFE Mon. N° 1542) y riboflavina (RFE Mon. N° 0292).

La mezcla se prepara siguiendo el siguiente método:

- Se pesa la cantidad de fludrocortisona necesaria para el número de cápsulas a elaborar.
- Se mezcla con materia colorante, riboflavina, autorizada para la coloración de medicamentos (riboflavina: 25 mg para 100 cápsulas)
- Se calcula el volumen de excipiente necesario, en función del número de cápsula a utilizar y de la cantidad a elaborar.
- Se completa el volumen necesario con excipiente soluble en agua, maltodextrina.
- Se mezcla la fludrocortisona con el excipiente adecuado según el procedimiento de mezclado (PN/L/PO/002/00).

Como la cantidad de fludrocortisona acetato por cápsula es siempre inferior a 1 mg, para minimizar el posible error en el momento de pesar el producto se aconseja hacer una dilución del principio activo con excipiente, y se añade un colorante autorizado (riboflavina) para asegurar una correcta homogeneización del principio activo. Para ello, se pesan 20 mg de fludrocortisona acetato, 20 mg de riboflavina como colorante y se completa hasta 2000 mg con el excipiente dextrinomaltosa. A continuación se

mezcla perfectamente hasta asegurar una correcta homogeneización del principio activo. Posteriormente se calcula la cantidad necesaria que hay que coger de la dilución preparada para tener la cantidad de principio activo solicitada en la receta.

En condiciones óptimas de conservación el plazo de validez es de 3 meses.

3. Cloruro sódico (mEq/kg/día): se administra en forma de ClNa al 20% a los lactantes con pérdida salina que no han iniciado la alimentación complementaria. Para su administración, se añaden los mililitros prescritos previo a cada toma. Para el cálculo de la dosis, se transformaron los ml de ClNa 20% administrados al día en mEq de sodio administrado y el resultado se expresó en mEq/kg de peso. Para la conversión de ml a mEq, se multiplicó la dosis total diaria administrada por 3,4 (1 ml de ClNa 20% aporta 3,4 mEq de Na).

3.2.3.c. Metodología de extracción de la muestra venosa para determinación de hormonas suprarrenales

La extracción de sangre venosa para la determinación de las hormonas citadas a continuación se realiza en las siguientes condiciones: paciente colocado en decúbito supino, en reposo desde una hora antes a la realización de la analítica, la extracción siempre se realiza antes de las 09:30 am, sin haber tomado previamente la dosis de medicación esa mañana y tras un período de ayuno nocturno de al menos 8 horas. En las mujeres, la determinación se realiza en la fase folicular del ciclo menstrual.

3.2.3.d. Metodología de determinaciones hormonales

Todas las determinaciones hormonales fueron realizadas en el Laboratorio del HGUGM.

3.2.3.d.1. 17-OH-Progesterona en papel absorbente

La medición de 17-OH-Progesterona está incluida en el Programa de Detección Precoz de Metabolopatías de la Comunidad Autónoma de Madrid desde 1990.

La técnica utilizada es la inmunofluorescencia a tiempo retardado (DELFI[®]) (figura 13). Es un ensayo inmunofluorométrico a tiempo resuelto sobre fase sólida basado en la técnica competitiva. El ensayo se basa en la competición entre la 17- α -hidroxiprogesterona (17-OHP) marcada con europio (Eu) y la 17-OHP de la muestra en relación a una cantidad limitada de sitios de unión de los anticuerpos policlonales, dirigidos específicamente contra la 17-OHP, derivados de conejo. Un segundo anticuerpo, dirigido contra las IgG de conejo, está unido a la fase sólida, permitiendo una buena separación del antígeno unido al anticuerpo y

del antígeno libre. La solución aumentadora disocia en la solución los iones de europio del anticuerpo marcado, que forman quelatos altamente fluorescentes. La fluorescencia de cada muestra es inversamente proporcional a la concentración de 17-OHP en la muestra.

El coeficiente de variación inter e intra ensayo para dos niveles de concentración (20-60 $\mu\text{mol/L}$ sangre) es de 3,2-2,8% y 8,3-8,8%, respectivamente.

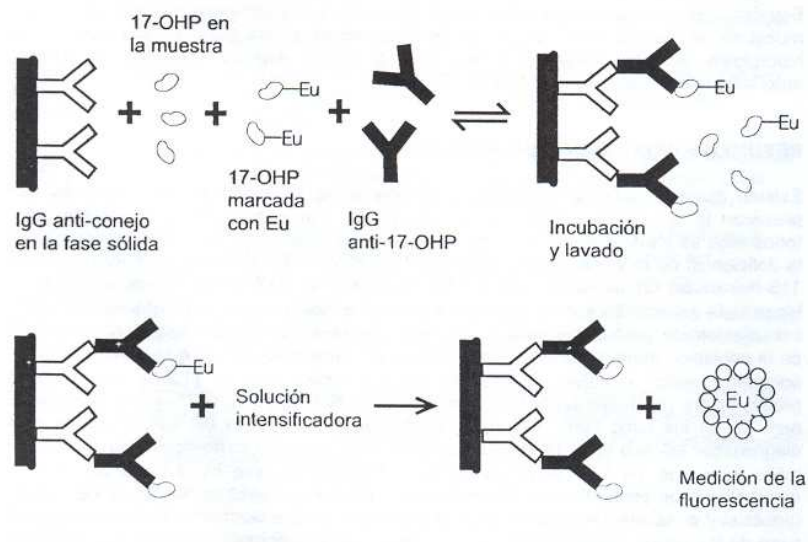


Figura 13. Método de medición de 17-OHP en papel absorbente.

3.2.3.d.2. 17-OH-Progesterona en sangre venosa

La muestra se recogió en un tubo sin aditivo (amarillo).

La determinación de la 17-OH-Progesterona plasmática se realizó mediante radioinmunoanálisis (RIA) comercializado (INMUNOTECH S.A., Marseille Cedex, France). La medición se puede realizar de forma directa, en suero o plasma o indirecta, tras la extracción de la muestra con éter y evaporación del solvente. Las muestras de suero o plasma, los extractos, el control y los calibradores se incuban con el trazador I125 17-OHP en tubos y se determina la radioactividad enlazada. Los valores desconocidos se determinan mediante interpolación de la curva estándar.

La sensibilidad analítica es de 0,046 ng/ml (0,14 nmol/L). La precisión intraanálisis tiene coeficiente de variación por debajo del 7,2% para el análisis directo o 7,8% para el indirecto. La precisión inter-análisis tiene un coeficiente de variación (CV) inferior o igual al 5,6% para el método directo y del 15,7% para el método de extracción.

3.2.3.d.3. DHEA-S

La muestra se recogió en un tubo sin aditivo (amarillo).

Los niveles circulantes de DHEA-S se determinaron mediante enzimoimmunoensayo quimioluminiscente competitivo en fase sólida (IMMULITE 2000, Diagnostics Products Corporation, Lo Angeles, SA). La sensibilidad del ensayo fue de 3 µg/dl. El CV intraensayo fue 9,8% para una concentración de 52,5 µg/dl, 8% para una concentración de 163 µg/dl, 6,5% para una concentración de 214 µg/dl, 6,3% para una concentración de 521 µg/dl y 4,9% para una concentración de 659 µg/dl. El CV interanálisis es de 13%, 9,8%, 9,3%, 8,8% y 7,9% respectivamente.

3.2.3.d.4. Testosterona

La muestra se recogió en un tubo sin aditivo (amarillo).

Los niveles circulantes de testosterona se determinaron mediante inmunoensayo competitivo empleando la quimioluminiscencia directa (ADVIA Centaur, Petaling Jaya, Salangor). La testosterona de la muestra compete con la testosterona marcada con éster de acridinio presente en el reactivo lumínico por una cantidad limitada de anticuerpo policlonal de conejo anti-testosterona, que está unido de forma covalente a partículas paramagnéticas de la fase sólida. El ensayo utiliza el agente liberador de testosterona para liberar la testosterona unida de las proteínas de unión endógenas de la muestra.

La sensibilidad de la técnica es de 10 ng/dl. La precisión intraanálisis para una concentración de 95,5 es del 6,2%, para una concentración de 365,4 ng/dl del 4,7%, para una concentración de 798,3 ng/dl del 2,6% y para una concentración de 1009,5 ng/dl del 2,3%. La precisión interanálisis es de 4,4%, 4,7%, 4,3% y 1,4% respectivamente.

Un ng/dl equivale a 0,01 ng/ml.

3.2.3.d.5. Androstenediona

La muestra se recogió en un tubo sin aditivo (amarillo).

Se determinó mediante ensayo radioinmunológico (GammaCoat™ DiaSorin, Stillwater, Minnesota). La técnica se basa en la competencia entre un antígeno radiactivo y uno no radiactivo por un número fijo de sitios de unión de anticuerpos. La cantidad de androstenediona etiquetada con I125 unida al anticuerpo en el tubo recubierto es inversamente proporcional a la concentración de androstenediona presente en el suero. La separación de antígeno libre y unido se logra mediante la decantación y aspiración de los tubos recubiertos de anticuerpo.

La sensibilidad es de 0,03 ng/ml. El CV intraanálisis para una concentración de 0,36 ng/ml es 4,5% y para una concentración de 6,04 ng/ml de 3,2%. El CV interanálisis para una concentración de 0,42 ng/ml es de 9,0% y para 1,90 ng/ml de 5,9%.

Diez ng/ml equivalen a 1 µg/dl.

3.2.3.d.6. Cortisol

La muestra se recogió en un tubo sin aditivo (amarillo).

Los niveles circulantes de cortisol se determinaron mediante inmunoensayo enzimático quimioluminiscente competitivo en fase sólida comercializado (INMULITE 2000 cortisol, Diagnostics Products Corporation, Los Angeles, CA).

La sensibilidad es de 0,20 µg/dl. El CV intraanálisis para una concentración de 3,3 µg/dl es del 6,1%, para una concentración de 8,5 del 5,2%, para una concentración de 18 µg/dl del 5,3%, para una concentración de 26 µg/dl del 6,2% y para una concentración de 31 µg/dl del 7,4%. El CV interanálisis es de 8,2%, 6,8%, 7,2%, 7,3% y 9,4%, respectivamente.

Un µg/dl equivale a 0,001 mg/dl.

3.2.3.d.7. ACTH

La muestra se recogió en un tubo con etilendiamino-tetra-acetato (EDTA) (morado) y se guardó en hielo hasta que fue procesada.

Se determinó mediante un ensayo inmunoradiométrico comercializado (IRMA ACTH DiaSorin S.p.A. Saluggia, Italia). Se realiza con dos anticuerpos de ACTH, cada uno de ellos específico para diferentes regiones de la molécula de ACTH, el trazador yodado utilizado en este sistema contiene un anticuerpo policlonal purificado de cabra específico para ACTH 26-39 y un anticuerpo monoclonal etiquetado con yodo 125 específico para ACTH 1-17. Cuando la muestra se incuban con el trazador y los glóbulos de poliestireno recubiertos de anticuerpos de ratón anticabra, los anticuerpos específicos de ACTH se unen a la ACTH presente en la muestra. Sólo la ACTH 1-39 presente en la muestra se una a ambos anticuerpos para formar un complejo. La concentración de ACTH presente en la muestra es directamente proporcional a la radiactividad medida. Los resultados se calculan comparando las cuentas por minuto de cada muestra con las cuentas por minuto de los calibradores ACTH incluidos en el equipo.

La sensibilidad de la técnica es de 1,5 ng/L, la precisión intraanálisis tiene un CV para concentraciones de 8,6 ng/L del 4,78%, para concentraciones de 10,39 ng/L del 4,21% y para

concentraciones de 260 ng/L del 3,54%. La precisión interanálisis tiene un CV para concentraciones de 8,6 ng/L del 5,74%, para concentraciones de 10,67 ng/L del 4,94% y para concentraciones de 257,0 ng/L del 3,16%.

3.2.3.d.8. Aldosterona

La muestra se recogió en un tubo sin aditivo (amarillo).

Se determinó mediante un ensayo inmunoradiométrico comercializado (DiaSorin S.p.A. Saluggia, Italia). El principio del ensayo consiste en la competición entre la aldosterona marcada y la aldosterona contenida en los calibradores o en las muestras para el número fijo y limitado de sitios anticorpales. Después de la incubación, la cantidad de aldosterona marcada enlazada al anticuerpo fijado en los tubos recubiertos es inversamente proporcional a la concentración de aldosterona no marcada presente en los calibradores o en las muestras. El método adoptado para la separación libre/enlazado está basado en el empleo de los tubos recubiertos, en donde el anticuerpo está fijado a las paredes de los tubos.

La sensibilidad de la técnica es de 10 ng/L. La CV intraanálisis para concentraciones de 86,4 ng/L es del 5,3%, para concentraciones de 249,9 ng/L del 3,8% y para concentraciones de 495,6 ng/L del 1,7%. La CV interanálisis para concentraciones de 91,3 ng/L es del 7%, para concentraciones de 230,3 ng/L del 3,4% y para concentraciones de 607,5 ng/L del 4,3%.

3.2.3.d.9. Actividad de renina plasmática

La muestra se recogió en dos tubos con EDTA (morado) y fue guardada en hielo hasta su procesamiento.

La ARP se determinó mediante radioinmunoensayo competitivo comercializado /GAMMACOAT, DiaSorin S,p,A, Minessota, USA). El procedimiento se basa en los principios de unión competitivos del radioinmunoensayo. El anticuerpo es inmovilizado en la pared inferior interna del tubo de GammaCoat. Para determinar la ARP, primero se incubó el plasma para generar angiotensina I y después se cuantifica la angiotensina I generada mediante radioinmunoensayo.

La sensibilidad de la técnica es de 0,018 µg/tubo. El CV intraanálisis para concentraciones de 1,6 µg/L/h es del 10%, para concentraciones de 6,2 µg/L/h del 4,6% y para concentraciones de 17,9 µg/L/h del 9,4%. El CV interanálisis para concentraciones de 1,6 µg/L/h es del 5,6%, para concentraciones de 10,7 µg/L/h del 7,6% y para concentraciones del 15,2 µg/L/h del 6,8%.

3.2.3.d.10. Insulina

La muestra se recogió en un tubo sin aditivo (amarillo).

Los niveles séricos de insulina se determinaron mediante radioinmunoensayo ultrasensible (LINCO Research, Inc., St Charles, MO, USA), empleando un anticuerpo monoclonal específico frente a insulina humana purificada desarrollado en cerdo de Guinea y I-insulina¹²⁵ como trazador. La sensibilidad del ensayo fue de 2 mUI/L. El CV intraensayo fue 5,5%, 4%, 3,3%, 3,9%, 3,8% y 3,7% para concentraciones de 7,67 mUI/L, 12,5 mUI/L, 17,2 mUI/L, 26,4 mUI/L, 100 mUI/L, y 291 mUI/L, respectivamente. El CV interensayo fue 7,3%, 4,9%, 4,1%, 5,0%, 4,2% y 5,3%, respectivamente.

3.2.3.d.11. IGF-1

La muestra se recogió en un tubo sin aditivo (amarillo).

Para la determinación cuantitativa de IGF-I se realiza un inmunoensayo por quimioluminiscencia (CLIA) de tipo sándwich (LIAISON® IGF-I, DiaSorin S.p.A. Saluggia, Italia), de un solo paso, después de separar el IGF-I de las proteínas de unión. Se emplea un anticuerpo monoclonal para revestir las partículas magnéticas (fase sólida) y después se enlaza otro anticuerpo monoclonal a un derivado de isoluminol (conjugado de isoluminol-anticuerpo). Durante la incubación, el IGF-I presente en calibradores, muestras y controles se une con la fase sólida y el conjugado. Después de la incubación, se elimina el material no enlazado mediante un ciclo de lavado. A continuación, se añaden los reactivos de cultivo que inducen una reacción de quimioluminiscencia. La señal luminosa, y por lo tanto la cantidad de conjugado de isoluminol, se mide en un fotomultiplicador como unidades relativas de luz (RLU, relative light units) e indica la concentración de IGF-I presente en calibradores, muestras y controles.

Los niveles de IGF-I pueden medirse en sangre con un rango de normalidad de 10-1000 ng/mL. La precisión intraanálisis tiene un CV para concentraciones de 71,2 ng/ml del 4,40%, para concentraciones de 189,3 ng/ml del 4,59%, para concentraciones de 412,7 ng/ml del 2,37%. El CV interanálisis para concentraciones de 77,5 ng/ml es del 8,5%, para 202,6 ng/ml del 4,3% y para 367,9 ng/ml es del 3,8%. La sensibilidad analítica es de 3 ng/ml.

Un ng/ml equivale a 1 µg/L.

3.2.3.d.12. IGFBP-3

La muestra se recogió en un tubo sin aditivo (amarillo).

Los niveles de IGFBP-3 se determinan mediante el test IGFBP-3 IMMULITE 2000. Es una prueba inmunométrica quimioluminiscente marcada enzimáticamente, de fase sólida.

La sensibilidad analítica es 0,1 µg/ml. El CV intraensayo fue 4,4% para una concentración de 0,91 µg/ml, 4,1% para una concentración de 1,21 µg/ml, 4,2% para una concentración de 1,91µg/ml, 4,2% para una concentración de 3,59 µg/ml, 4,6% para una concentración de 4,82 µg/ml y 4,8% para una concentración de 8,83 µg/ml. El CV interanálisis es de 6,6%, 6,6%, 6,8%, 7,2%, 7,3% y 5,2% respectivamente.

Un µg/ml equivale a 1 mg/L.

3.2.3.d.13. TSH

La muestra se recogió en un tubo sin aditivo (amarillo).

La determinación de la TSH plasmática se realizó mediante un inmunoensayo de quimioluminiscencia de partículas paramagnéticas para la determinación cuantitativa de los niveles de TSH en suero y plasma comercializado (ensayo Access Immunoassay Systems HYPERSensitive hTSH / Fast hTSH, Beckman Coulter Inc). Este ensayo permite obtener resultados de tercera generación (HYPERSensitive hTSH: sensibilidad de 0,01 – 0,02 µUI/ml con un CV interensayo ≤ 20%), y/o segunda generación (Fast hTSH: sensibilidad 0,1 µUI/ml, con un CV interensayo ≤ 20%). Todas las determinaciones se realizaron mediante el ensayo HYPERSensitive hTSH (precisa 110 µUI/ml de suero) excepto en los que la muestra fue insuficiente (precisa 55 µUI/ml de suero), en cuyo caso se empleó el ensayo de segunda generación (Fast hTSH).

La sensibilidad del ensayo HYPERSensitive hTSH es de 0,01 – 0,02 µUI/ml, la precisión intraanálisis tiene un CV para una concentración de 0,028 µUI/mL del 12,3%, para una concentración de 0,048 µUI/ml del 10% y para una concentración de 0,084 µUI/mL del 4,8%. El coeficiente de variación interanálisis tiene un coeficiente de variación de 13%, 7,3% y 4,4%, respectivamente.

La sensibilidad del ensayo Fast hTSH es de 0,1 µUI/ml, la precisión intraanálisis tiene un CV para una concentración de 0,032 µUI/ml del 9,4%; para una concentración de 0,054 µUI/ml del 7,7% y para una concentración de 0,090 µUI/ml del 4%. El CV interensayo tiene un CV de 12,9%, 10,5% y 4,7%, respectivamente.

Un $\mu\text{UI/ml}$ equivale a 1 mUI/L.

3.2.3.d.14. T4 libre

La muestra se recogió en un tubo sin aditivo (amarillo).

La determinación de la T4L plasmática se realizó mediante un inmunoensayo de quimioluminiscencia de partículas paramagnéticas comercializado (ensayo Access Immunoassay Free T4, Beckman Coulter Inc). Se trata de un análisis enzimático de dos pasos, para la determinación cuantitativa de los niveles de tiroxina en suero o plasma. El volumen de muestra requerido es de 30 μL . La sensibilidad analítica distinguible de cero con un grado de confianza del 95% es 0,1 ng/dL. La precisión intraanálisis tiene un CV para una concentración de 0,46 ng/dL del 4,4%; para 0,76 ng/dL del 2,12%; para 2,04 ng/dl del 2,74% y para 4,27 ng/dL del 1,82%. El CV interensayo tiene un coeficiente de variación de 8,08%, 4,47%, 3,34% y 4,71%, respectivamente.

Previamente a noviembre de 2007 la determinación de T4L se realizó mediante electroquimioluminiscencia mediante el Modular Analytics (módulo E170) de Roche Diagnostics®. La sensibilidad analítica para T4L era de 0,023 ng/dl. El CV intraanálisis para concentraciones de 1,16, 1,39 y 2,79 ng/dl era del 2,7, el 2,6 y el 3,6%, respectivamente.

3.2.3.e. Otras determinaciones analíticas

3.2.3.e.1. Glucosa

La muestra de sangre se recoge en tubo con heparina de litio (verde) si se cursa por vía urgente o en un tubo sin aditivo (amarillo) si se cursa por vía no urgente.

La determinación cuantitativa de la concentración de glucosa en suero o plasma se realiza en los analizadores COBAS INTEGRA. El test se basa en un método enzimático de referencia empleando hexocinasa (HK). La HK cataliza la fosforilación de la glucosa mediante la ATP para formar glucosa-6-fosfato y ADP. La reacción continúa con el empleo de una segunda enzima, la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH), que cataliza la oxidación de glucosa-6-fosfato por NAD^+ para formar NADH. La concentración de NADH formado es directamente proporcional a la concentración de glucosa. Se determina midiendo el aumento de la absorbancia a 340 nm.

El intervalo de medición de la aplicación rápida de glucosa se limita a 0-30 mmol/l (0-540 mg/dl) sin posdilución y a 0-300 mmol/l (0-5400 mg/dl) con posdilución. El factor de conversión: $\text{mmol/l} \times 18,02 = \text{mg/dl}$.

El CV intraensayo para una concentración de 5,3 mmol/l (96 mg/dl) es de 1,7% y para concentración de 33,2 mmol/L (598 mg/dl) es del 0,72%. El CV interensayo es 2,6% y 1,5%, respectivamente. La sensibilidad analítica (límite de detección inferior) es 0,033 mmol/l (0,59 mg/dl).

3.2.3.e.2. Sodio y potasio

La muestra de sangre se recoge en tubo con heparina de litio (verde) si se cursa por vía urgente o en un tubo sin aditivo (amarillo) si se cursa por vía no urgente.

La concentración de sodio y potasio se determina mediante el módulo de electrolitos de los sistema COBAS INTEGRA. El método se basa en el empleo de electrodos selectivos de iones que emplean muestras diluidas automáticamente (ISE Indirect).

Para la determinación de sodio, el CV en la serie ha sido del 0,26% para concentraciones de 112 mmol/l y de 0,24% para concentraciones del 138 mmol/l. El CV interensayo ha sido del 1,0% y del 0,59%, respectivamente.

Para la determinación del potasio, el CV en la serie para concentraciones de 4,3 mmol/l es de 0,44% y para concentraciones de 6,9 mmol/l del 0,31%. El CV interensayo es 0,75% y 0,83%, respectivamente.

3.2.3.e.3. Gasometría

La muestra se recoge de sangre venosa en una jeringa de gasometría.

El sistema GEM Premier 3000 proporciona determinaciones cuantitativas rápidas y exactas del pH, Na⁺, K⁺ y glucosa en sangre completa. EL GEM Premier 3000 utiliza los sensores potenciométricos para determinar el pH, Na⁺ y K⁺ y utiliza un electrodo amperométrico para medir las concentraciones de glucosa.

Los CV intraensayo e interensayo para las distintas concentraciones se resumen en las tablas 7-10:

Media	7,153	7,175	7,280	7,381	7,504	7,682
CV intraensayo	0,012	0,007	0,011	0,007	0,006	0,009
CV interensayo	0,17	0,10	0,14	0,09	0,08	0,11

Tabla 7. Precisión del pH en sangre completa.

Media (mmol/l)	110,4	121,3	132,0	138,0	155,9	169,3	187,0
CV intraensayo	0,50	0,89	1,53	0,84	0,77	1,58	1,70
CV interensayo	0,46	0,74	1,16	0,61	0,50	0,93	0,91

Tabla 8. Precisión del Na⁺ en sangre completa.

Media (mmol/l)	2,36	3,47	4,59	5,58	7,24	9,48	17,0
CV intraensayo	0,083	0,116	0,080	0,160	0,057	0,107	0,253
CV interensayo	3,53	3,34	1,74	2,86	0,79	1,13	1,48

Tabla 9. Precisión del K⁺ en sangre completa.

Media (mg/dl)	30,0	53,1	97,6	177,4	348,5	441,0
CV intraensayo	1,50	2,08	3,02	6,93	14,9	21,1
CV interensayo	5,00	3,92	3,10	3,91	4,28	4,78

Tabla 10. Precisión de la glucosa en sangre completa.

3.2.3.e.4. Hemoglobina glicada

La muestra se recogió en un tubo con EDTA (morado).

La muestra es analizada mediante G8 analizador HPLC, que ofrece determinación directa de HbA1c estable (SA1c) con menos de 2% de coeficiente de variación. La técnica de medición consiste en cromatografía líquida de alto rendimiento del Intercambio iónico. El Intercambio iónico HPLC es el estándar de oro para la medición de HbA1c. A través del desarrollo de Tosoh de una columna de HPLC de intercambio iónico no poroso, los resultados de HbA1c no están clínicamente afectados por la presencia de la mayoría de las variantes de hemoglobina o derivados de la hemoglobina. El tiempo para el primer resultado es de 3.5 minutos. El tiempo de análisis es solamente de 1.6 minutos.

La precisión intraanálisis tiene un CV para una concentración media de 5,07% del 0,93%; para 7,39% del 0,42% y para 13,54% del 0,44%. El CV interensayo tiene un CV para una concentración media de 5,01% del 0,61%, para 7,04% del 0,70 y para el 12,18% del 0,36%.

3.2.3.f. Estudio genético-molecular

La muestra se recogió en un tubo con EDTA (morado).

Este estudio permite la detección de las mutaciones del gen CYP21A2, incluye el cribado básico de las 12 mutaciones recurrentes, 10 mutaciones puntuales, deleciones y

conversiones alcanzando una cobertura superior al 90% en la forma pierde sal, descartando el 99%.

El análisis molecular se realizó mediante análisis directo e indirecto del gen.

3.2.3.f.1. Análisis directo del gen CYP21A2

El análisis directo de gen a través del estudio de deleciones y conversiones por técnica de Southern y el cribado de las mutaciones puntuales recurrentes mediante la reacción en cadena de la polimerasa e hibridación específica del alelo (PCR-ASO), permite caracterizar un elevado porcentaje de alelos en nuestra población (75-90% según se trate de formas leves o severas, respectivamente)^{100,108}.

Técnica de Southern para deleciones y conversiones grandes del gen: En esta técnica los fragmentos de DNA se separan en una electroforesis según su tamaño molecular y son transferidos, tras ser desnaturalizados, a un soporte (membrana de nilón) que permite su revelado con la sonda específica del gen, en este caso pC21/3c marcada radiactivamente. La falta de la banda asociada al gen indica homocigosis para la deleción del gen, encontrándose la intensidad de esta banda reducida, si la deleción está presente en heterocigosis. El empleo de tres enzimas de restricción permite excluir la posibilidad de interpretar incorrectamente como deleciones patrones que podrían ser debidos a una conversión de una zona que incluyera los sitios de restricción analizados. Cuando nos encontramos ante una conversión, el patrón de deleción no se mantiene para todos los enzimas. De cualquier manera, ambas alteraciones son de tipo severo y se asocian con formas pierde-sal de la deficiencia. Las deleciones y conversiones grandes suponen aproximadamente 25-30% de los alelos mutados, quedando un elevado porcentaje de cromosomas sin caracterizar.

PCR (amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa)-ASO (hibridación específica de alelo) para mutaciones puntuales en CYP21A2: esta técnica permite detectar mutaciones puntuales, siendo estas mutaciones puntuales idénticas a las que constitutivamente existen en el pseudogén. El mecanismo de conversión génica habría actuado en una región limitada de la secuencia del gen funcional. Al transferirse una mutación puntual del pseudogén al gen funcional, lo inactivan. El estudio de estas mutaciones se hace en fragmentos amplificados del gen funcional CYP21A2. Para ello, debe excluirse de la amplificación las secuencias del pseudogén, ya que éstas presentarán las mutaciones sin tener ello trascendencia ninguna en cuanto a la funcionalidad del CYP21A2. Existen diversos protocolos para la amplificación específica del gen y posterior análisis de las mutaciones. Las

mutaciones analizadas para las formas clásicas son: *I2 splice*, *Del8nt*, *Cluster*, *InsT*, *Q318X*, *R356W*, *R483P* asociadas con pérdida salina y *I172N*, *R356W* asociadas con forma virilizante simple. Las mutaciones incluidas asociadas con formas no clásicas son: *P30L*, *V281L*, *P453S*.

El gen completo se amplifica en fragmentos solapantes que son desnaturalizados y fijados sobre membranas de nilón. De forma paralela, se estudian sobre estas membranas las distintas mutaciones mediante hibridación específica de alelo (ASO). Para ello se utilizan pequeñas zonas u oligonucleótidos marcados específicos de las secuencias normal y mutada que hibridarán específicamente con las secuencias correspondientes.

El análisis directo del gen permite la caracterización de un gran porcentaje pero no la totalidad de alelos. Se necesita un análisis complementario de tipo indirecto para incrementar la informatividad y con ello poder realizar el diagnóstico prenatal.

3.2.3.f.2. Análisis indirecto del gen CYP21A2

La ubicación del gen CYP21A2 en el locus HLA hace que su haplotipaje sea de utilidad en el análisis indirecto de esta enfermedad. El análisis indirecto del gen, se ha realizado mediante el estudio de microsatélites en la región HLA (D6S273, D6S439 y TAP 1) y ha permitido completar la informatividad para la detección de portadores, a la par que incrementar la precisión del diagnóstico, para el despistaje de deleciones y mutaciones puntuales.

3.2.3.f.3. Metodología del estudio genético-molecular

1. Extracción de ADN de los leucocitos de sangre periférica de las muestras extraídas.
2. Técnica de Southern: Digestión del ADN con los enzimas de restricción (BgIII, Taq I y Kpn I) y análisis de los fragmentos de restricción mediante una sonda específica de CYP 21A2, pC21/3c.
3. Densitometría óptica sobre las autorradiografías para la evaluación de la intensidad relativa de los fragmentos polimórficos asociados al gen y pseudogen.
4. Diseño y síntesis de los oligonucleótidos requeridos, tanto para la PCR, como para la hibridación específica de alelo.
5. Amplificación específica del gen CYP21A2 mediante PCR, utilizando los oligonucleótidos descritos para las zonas diferenciales del gen y pseudogen.

6. Detección de mutaciones puntuales por hibridación específica de alelo normal y mutado (ASO). Para el marcaje de oligonucleótidos se empleará un marcaje no radiactivo con digoxigenina y revelado por quimioluminiscencia.
7. Análisis indirecto del gen mediante el estudio de microsatélites en la región HLA (D6S273, D6S439 y TAP 1). Además se utiliza un marcaje no radioactivo con fluorescencia y análisis en cromatografía capilar (ABIPrism 310, Perkin Elmer) y análisis de fragmentos con programa GeneScan.
8. Electroforesis en geles nativos de ADN desnaturalizado para detección del polimorfismo de la cadena sencilla (SSCP) en fragmentos de 100-200 pb. Se emplearán fragmentos amplificados y posteriormente digeridos con enzimas de restricción.
9. Tinción mediante método de Ag para aumentar la sensibilidad de esta técnica. Alternativamente se realizará marcaje radioactivo mediante incorporación del isótopo radioactivo.
10. Secuenciación de aquellos alelos candidatos a presentar mutaciones por método directo empleando polimerasa termoestable en termociclador y dideoxinucleótidos terminadores marcados con fluorescencia. Análisis mediante cromatografía capilar en ABIPrism310, Perkin Elmer.

3.2.4. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó empleando la versión 15.5 del *software* SPSS® para entorno Windows en un ordenador compatible Toshiba® Satellite A200-1TS.

Las variables cualitativas se expresaron en forma de frecuencias absolutas y relativas.

Las variables cuantitativas con distribución normal se expresaron como media \pm desviación estándar (DE) ó media \pm desviación estándar de la media (DE) para aquellos parámetros normalizados respecto a valores poblacionales. Las variables cuantitativas con distribución no normal se expresaron mediante mediana y rango intercuartílico (percentil 25-percentil 75). Para estudiar la distribución normal de las variables se aplicó la prueba de Kolmogor-Smirnov.

En todos los casos se estableció como nivel de significación igual a $p < 0,05$.

En el caso de variables paramétricas, las comparaciones entre las medias de dos grupos se realizaron mediante la prueba de la “t de Student” para muestras independientes. En caso de variables con distribución no normal se empleó la prueba *U* de *Mann-Whitney*.

Cuando las comparaciones se establecieron entre dos variables cualitativas, el método estadístico empleado fue la prueba de chi cuadrado y la exacta de Fisher (para muestras pequeñas).

El análisis de las correlaciones entre variables cuantitativas, se llevó a cabo mediante la determinación del coeficiente de correlación de Spearman (*r*).

Se utilizó una curva ROC para valorar la capacidad discriminadora de la 17-OHP para clasificar a los pacientes en las dos formas clínicas de la enfermedad.

Para estudiar la evolución de los parámetros en el tiempo se ha utilizado la prueba T de Student de medidas repetidas o para pruebas no paramétricas la prueba de *Wilcoxon* según corresponda.

3.2.5. Consideraciones éticas

Se informó verbalmente y por escrito a los padres/tutores de los niños y se recogió un consentimiento informado.

Los datos fueron tratados con absoluta confidencialidad, en cumplimiento de la Ley Orgánica 97 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal.

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación del HGUGM.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Estudio descriptivo general

Se han incluido un total de 49 pacientes diagnosticados de formas clásicas de HSC por 21OHD que están en seguimiento en la Unidad de Endocrinología Pediátrica

En el Laboratorio de Detección Precoz se estudiaron las muestras de los recién nacidos en la Comunidad Autónoma de Madrid durante el período de estudio 1990-2015. Se analizaron 1.594.481 muestras de recién nacidos.

En la tabla 11 se detallan las características del Programa de Cribado Neonatal de la CAM. La sensibilidad del Programa (probabilidad de que un paciente enfermo obtenga un resultado positivo en la prueba de Cribado) es del 100% y la especificidad (probabilidad de que un sujeto sano tenga un resultado negativo en la prueba) del 99,55%. El valor predictivo positivo de la técnica (probabilidad de tener un paciente con resultado positivo en sangre venosa si el resultado de la prueba de cribado es positivo) es 2,53% y el valor predictivo de la enfermedad (probabilidad de tener la enfermedad si el resultado de la prueba de cribado es positivo) es 1,16%. El valor predictivo negativo de la técnica (probabilidad de no tener la enfermedad si el resultado de la prueba diagnóstica es negativo) es 100% y el porcentaje de falsos positivos de la técnica (porcentaje de pacientes con resultado positivo en una primera muestra pero negativo en la segunda muestra de papel absorbente) es 0,44%. La incidencia de la enfermedad en la CAM es 1/19.211 recién nacidos vivos.

El Programa de Detección Precoz de la CAM detectó 184 pacientes (107 varones y 77 mujeres). De ellos, 83 eran formas clásicas (45 varones y 38 mujeres) y 101 elevaciones transitorias de 17-OHP, formas no clásicas o crípticas (62 varones y 39 mujeres).

Los ciento un pacientes que presentaron resultado positivo en el Cribado Neonatal y no estaban afectos de formas clásicas, tenían niveles elevados de 17-OHP en el suero, por lo que fueron seguidos en nuestra Unidad. En la mayoría de los casos estos niveles se fueron normalizando progresivamente y el estudio genético del gen CYP21A2 no mostró alteraciones o si lo hizo se trataba de pacientes con formas no clásicas o portadores.

De los 83 pacientes enfermos, 37 (13 varones y 24 mujeres) estaban ingresados al recibir el resultado del Cribado y su seguimiento se ha realizado en el Hospital de Origen.

Los 46 pacientes restantes con resultado positivo en el Cribado Neonatal, fueron remitidos para confirmación diagnóstica e inicio de tratamiento a la Unidad Clínica de Seguimiento del HGUGM.

	Total
POBLACIÓN (VP+FP+FN+VN)	1.594.481
VN	1.576.143
FP	7.095
VP	184
SENSIBILIDAD VP/(VP+FN)	100
ESPECIFICIDAD VN/(FP+VN)	99,55
VPP VP/(VP+FP)	2,53
VPN VN/(FN+VN)	100
% FP	0,44
INCIDENCIA	1/19.211

Tabla 11. Características del Programa de Cribado Neonatal de 21OHD de la CAM entre los años 1990 y 2015.

VP: verdadero positivo, FP: falso positivo, FN: falso negativo, VN: verdadero negativo, VPP: valor predictivo positivo, VPN: valor predictivo negativo, %FP: porcentaje de falsos positivos.

Se han incluido en nuestro trabajo estos 46 pacientes (32 varones y 14 mujeres) afectos por formas clásicas de 21OHD seguidos en nuestra Unidad y 3 pacientes diagnosticados clínicamente: 1 paciente diagnosticado en nuestra Unidad antes de la implantación del Programa de Cribado Neonatal (paciente 1) y 2 niños que habiendo nacido en otros países fueron remitidos a nuestra Unidad para seguimiento de su enfermedad (pacientes n° 17 procedente de Santo Domingo, llegó a España a los 55 días de vida, sin diagnóstico y en situación clínica grave y paciente 28 diagnosticado en Rumanía llegó a nuestra Unidad a los 16 meses de vida).

Los padres o tutores legales de los pacientes fueron informados sobre el estudio y aceptaron su participación en el mismo.

4.1.1. Características generales de la población estudiada

4.1.1.a. Sexo

De los 49 incluidos en el estudio, 14 eran de sexo femenino (28,6%) y 35 de sexo masculino (71,4%).

4.1.1.b. Antecedentes perinatales

Se valora el tipo de parto, la edad gestacional y la antropometría al nacimiento:

- Tipo de parto: 23 pacientes (53,5%) nacieron mediante parto eutócico, 4 (9,3%) por parto instrumental y 16 (37,2%) por cesárea.
- Edad gestacional: la edad gestacional media fue 39 ± 2 DE semanas (tabla 12). Presentaron parto prematuro 5 pacientes: pacientes nº 12 y 14 que nacieron a las 36 + 4 semanas, el nº 21 nació a las 36 semanas, el 26 a las 34 semanas y el 46 fue el más prematuro, nació a las 31 semanas. No se han encontrado diferencias en la edad gestacional en función del sexo ni de la forma clínica.
- Antropometría al nacimiento (peso y longitud): El Z-score del peso y de la longitud al nacimiento en nuestros pacientes no difiere del encontrado en la población general (tabla 12). Tampoco difiere entre hombres y mujeres (tabla 13) ni entre forma pierde sal y virilizante simple (tabla 14).

	Media \pm DE (mediana; rango intercuartílico)	Z-score: Media \pm DE (mediana; rango intercuartílico)
Edad gestacional (semanas)	39,0 \pm 2,0 (39,7; 38 – 40,2)	-
Peso RN (g)	3248 \pm 567 (3210; 3000 - 3550)	0,13 \pm 1,13 (0,12; -0,78 a +0,90)
Longitud RN (cm)	49,7 \pm 3,2 (50; 48,5 - 51)	0,11 \pm 1,42 (-0,10; -0,76 a +1,19)

Tabla 12. Características neonatales: edad gestacional, peso y longitud al nacimiento.
RN: recién nacido

	Varones	Mujeres	p
Peso (kg)	3,35 \pm 0,43	2,99 \pm 0,76	0,140
Z-score Peso	0,23 \pm 1,08	-0,09 \pm 1,25	0,496
Longitud (cm)	50,06 \pm 2,37	48,85 \pm 4,68	0,707
Z-score Longitud	0,07 \pm 1,38	0,20 \pm 1,56	0,545

Tabla 13. Antropometría neonatal en función del sexo.

	Pérdida salina	Virilizante simple	p
Peso (kg)	3,26 \pm 0,60	3,18 \pm 0,39	0,347
Z-score Peso	0,14 \pm 1,20	0,10 \pm 0,88	0,793
Longitud (cm)	49,73 \pm 3,48	49,60 \pm 2,13	0,788
Z-score Longitud	0,12 \pm 1,41	0,05 \pm 1,53	0,929

Tabla 14. Antropometría neonatal según forma clínica.

4.1.1.c. Antecedentes familiares

De la muestra estudiada, 4 (8,16%) pacientes tenían un hermano previo afecto que había sido el caso índice en la familia.

De las 4 familias que tras tener un primer hijo afecto, tuvieron un segundo hijo también afecto de la enfermedad, 3 familias solicitaron tratamiento y diagnóstico prenatal, mediante análisis de cariotipo y DNA fetal extraído por biopsia corial y 1 de ellas rechazó tratamiento y diagnóstico prenatal.

De las 3 familias que optaron por tratamiento prenatal, en un caso el tratamiento se suspendió tras conocerse sexo fetal masculino (paciente nº 23) y en los dos restantes se mantuvo hasta final de gestación por sexo fetal femenino afectas (pacientes nº 6 y 46).

4.1.1.d. Consanguinidad

Se encontraron 6 pacientes (12,2%) con antecedentes de consanguinidad en los padres. Estos eran una familia con 2 hijos afectados, otra con 2 hijos mellizos afectados, otra con 1 hijo previo sano y otra natural de Marruecos con 1 hijo previo fallecido en torno a los 2 meses de vida, posiblemente a causa de una crisis de pérdida salina.

4.1.1.e. Infertilidad

En 4 pacientes (8,7%) se encontraron antecedentes de infertilidad en los progenitores frente a 42 (91,3%) que no presentaron problemas. En un caso, la gestación se había producido mediante inseminación artificial, otro por fecundación in vitro, otro por donación de ovocitos y otro por donación de esperma.

4.1.1.f. Muertes prematuras

Dos familias (4,3%) habían tenido un hijo previamente fallecido por causa desconocida en los primeros 3 meses de vida. En una familia de origen marroquí, el fallecimiento ocurrió en Marruecos y en la otra familia, en Brasil, país de procedencia de la madre. En ambos casos, el hijo incluido en el estudio presentaba una forma pierde sal.

4.1.1.g. Etnia progenitores

Los progenitores eran españoles salvo en 6 casos. En un paciente, ambos progenitores eran venezolanos, en otro ambos eran rumanos, en dos eran chinos, en uno marroquíes y en otro la madre era brasileña.

4.1.1.h. Pacientes excluidos

Fueron excluidos del estudio 37 pacientes diagnosticados mediante Cribado Neonatal de formas clásicas de 21OHD, que no realizaron seguimiento en nuestra Unidad y 101 pacientes con elevación transitoria de 17-OHP.

4.1.2. Valoración al diagnóstico

4.1.2.a. Forma clínica

Los pacientes fueron clasificados según la forma clínica de 21OHD en (tabla 15):

- Forma con pérdida salina: 39 (79,6%) de los cuales 28 (71,8%) eran de sexo masculino y 11 (28,2%) de sexo femenino.
- Forma virilizante simple: 10 (20,4%) de los cuales 7 (70%) eran de sexo masculino y 3 (30%) de sexo femenino.

	Pérdida salina	Virilizante simple	n
Varones	28	7	35
Mujeres	11	3	14
n	39	10	49

Tabla 15. Características principales de población.

4.1.2.b. Edad al diagnóstico

Los pacientes diagnosticados mediante Programa de Cribado Neonatal se diagnosticaron a una edad mediana de 8,50 días (6,00 – 10,50) como se detalla en la tabla 16.

El diagnóstico en los pacientes con pérdida salina fue más precoz (8,00 días; 6,00 - 9,00 días) que en los que presentaban forma virilizante simple (18,00 días; 14,50 – 31,50), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$).

No existen diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,110$) en la edad al diagnóstico por Cribado Neonatal entre mujeres (7,00; 3,00-9,00 días) y hombres (9,00; 8,00-12,00 días).

El Cribado Neonatal permitió realizar el diagnóstico de la forma virilizante simple en varones en el primer mes de vida (18,00; 14,50-31,50 días).

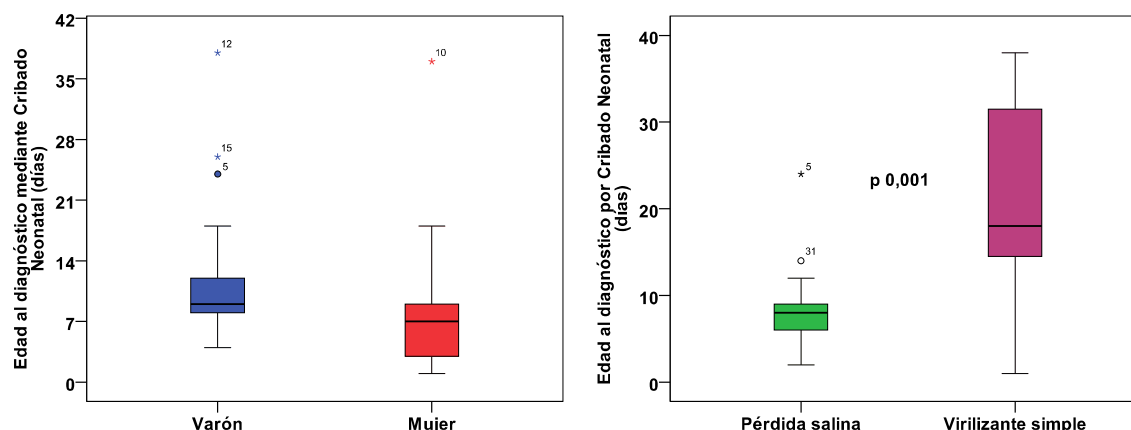


Figura 14. Edad al diagnóstico mediante Cribado Neonatal de 21OHD en función del sexo y la forma clínica.

En la tabla 16, se detallan las edades en función de la forma clínica y el sexo en toda la cohorte de pacientes (incluye cribado neonatal y diagnóstico clínico) y en los pacientes diagnosticados mediante cribado neonatal. La edad mediana al diagnóstico de toda la cohorte de pacientes es 9,00 (6,00 – 13,00 días).

		COHORTE DE PACIENTES		CRIBADO NEONATAL	
		Edad al diagnóstico (días) Media ± DE Mediana, p25-p75 Mín; Máx	p	Edad al diagnóstico (días) Media ± DE Mediana, p25-p75 Mín; Máx	p
Global		12,17 ± 11,94 (9,00; 6,00-13,00) 1; 55		10,48 ± 8,00 (8,50; 6,00-10,50) 1; 38	
Sexo	Mujeres	8,14 ± 9,50 5,50; 2,00-9,00 1; 37	0,014	9,08 ± 9,94 7,00; 3,00-9,00 1; 37	0,110
	Varones	13,88 ± 12,58 9,00; 8,00-14,00 4; 55		11,03 ± 7,20 9,00; 8,00-12,00 4; 38	
Forma clínica	PS	9,24 ± 8,70 8,00; 6,00-9,00 1; 55	< 0,001	8,03 ± 3,81 8,00; 6,00-9,00 2; 24	< 0,001
	VS	24,56 ± 16,01 18,00; 16,00-37,00 1; 54		20,88 ± 12,40 18,00; 14,50-31,50 1; 38	

Tabla 16. Edad al diagnóstico de toda la muestra (n=49) y de los pacientes diagnosticados mediante Cribado Neonatal (n=43).

En la cohorte completa de pacientes, las mujeres (5,50; 2,00 - 9,00 días) se diagnostican antes que los varones (9,00; 8,00 – 14,00 días), siendo la diferencia

estadísticamente significativa ($p = 0,014$), tal y como se representa en la figura 15. Esta diferencia por sexo no es significativa al considerar de forma exclusiva los pacientes con diagnóstico por cribado neonatal, pues el cribado reduce la edad de diagnóstico en varones.

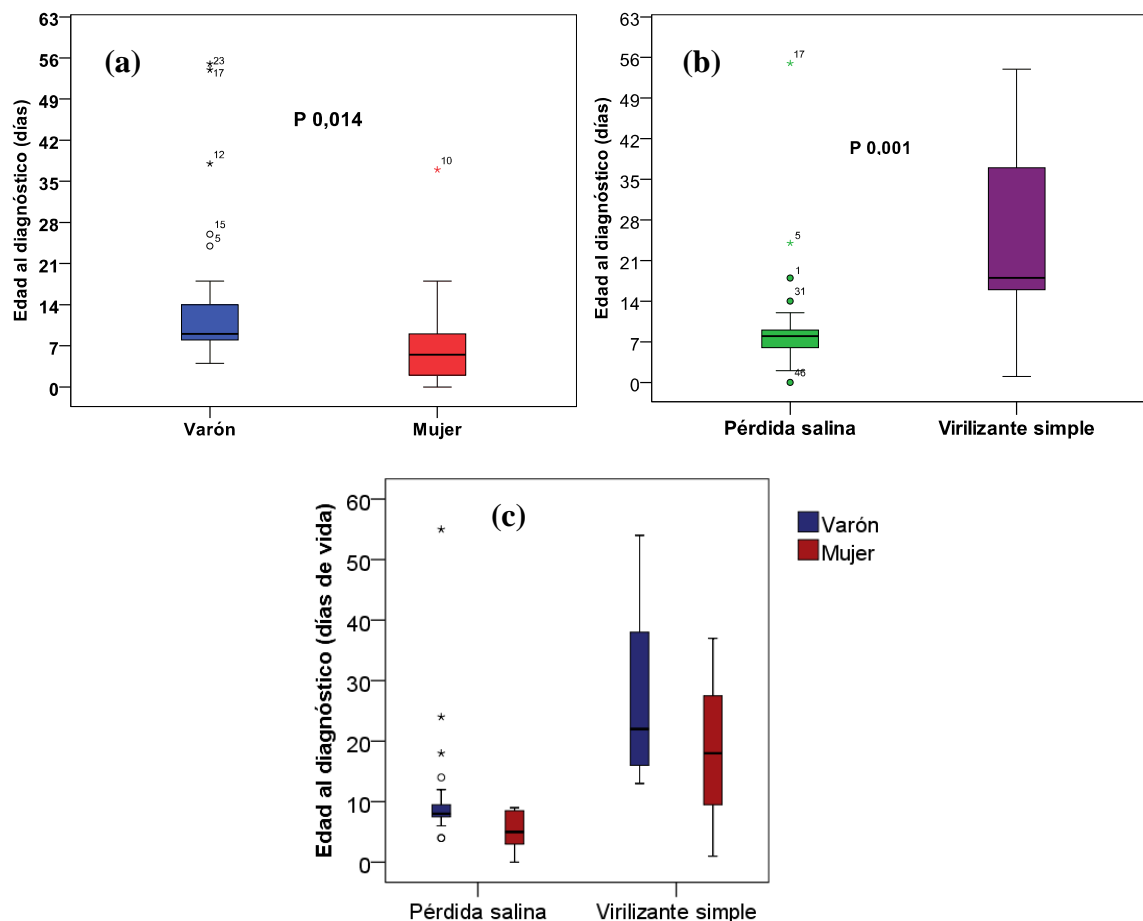


Figura 15. Edad al diagnóstico de 21OHD en función del sexo (a) y la forma clínica (b) y de ambos (c) en la cohorte completa ($n=49$).

De la cohorte completa de pacientes, el 34,79% ($n=16$) fueron diagnosticados antes de los 7 días de vida, el 47,82% ($n=22$) entre los 8-15 días de vida, el 10,87% ($n=5$) entre los 16-30 días y el 6,52% ($n=3$) más allá del mes de vida (tabla 17).

Los pacientes afectados de formas pierde sal ($n=36$), fueron diagnosticados el 38,89% ($n=14$) en la primera semana de vida, el 58,33% ($n=21$) en la segunda semana de vida y el 2,78% ($n=1$) entre los 16-30 días de vida (paciente número 5 diagnosticado a los 24 días de vida). Ningún paciente afecto de forma pierde sal fue diagnosticado más allá del mes de vida.

Los pacientes con forma virilizante simple se diagnosticaron el 20% ($n=2$) en los primeros 7 días de vida, el 10% ($n=1$) entre los 8-15 días de vida, el 40% ($n=4$) entre los 16-30 días de vida y el 30% ($n=3$) más allá del mes de vida. Este último grupo incluye la

paciente nº 10 diagnosticada a los 37 días de vida (desde el nacimiento estaba en estudio por genitales ambiguos por presentar un Prader III). Los otros dos pacientes nº 11 y 12 fueron diagnosticados a los 2 meses de vida.

	≤ 7 días de vida	8- 15 días de vida	16-30 días de vida	≥ 31 días de vida	n
PS	14 (38,89%)	21 (58,33%)	1 (2,78%)	0	36 (100%)
VS	2 (20,00%)	1 (10,00%)	4 (40,00%)	3 (30,00%)	10 (100%)
Global	16 (34,79%)	22 (47,82%)	5 (10,87%)	3 (6,52%)	46 (100%)

Tabla 17. Número de pacientes diagnosticados por Cribado Neonatal en función de la edad.

De la cohorte completa de pacientes, en 3 afectos de forma pierde sal el diagnóstico se realizó por aparición de síntomas sugestivos de la enfermedad. El paciente nº1 fue diagnosticado a los 18 días de vida, había nacido en nuestro hospital antes de la implantación del cribado neonatal. Los otros dos pacientes (nº 17 y 28) afectos de forma pierde sal que fueron diagnosticados más allá del mes de vida habían nacido en países sin cribado neonatal. El paciente 17 nacido en Santo Domingo fue diagnosticado al llegar a España a los 55 días de vida y el 28 se diagnosticó en Rumanía más allá del mes de vida, llegó a España a los 16 meses.

4.1.2.c. Modo de diagnóstico

Mediante el Programa de Cribado Neonatal se realizó el diagnóstico de 46 pacientes (93,9%), 36 (78,2 %) correspondían a forma pierde sal y 10 (21,8%) a forma virilizante simple.

El diagnóstico se hizo clínicamente en 3 pacientes (6,1%) varones afectos de forma pierde sal (pacientes nº 1, 17 y 28). El paciente nº 1 había nacido antes de la implantación del Programa de Cribado (diagnóstico realizado a los 18 días de vida en nuestro hospital) y en los dos restantes (nº 17 y 28), los pacientes habían nacido en lugares sin cribado neonatal. El paciente 17 llegó a nuestra Unidad a los 55 días de vida en una situación clínica grave de pérdida salina. El paciente 28 llegó a España a los 16 meses de edad y estaba recibiendo tratamiento desde el segundo mes de vida.

En 3 pacientes (6,1%), el tratamiento y diagnóstico se realizó prenatalmente (pacientes nº 6, 23 y 46) por presentar hermano afecto. En el paciente nº 23, el tratamiento se suspendió tras identificarse feto varón afecto de forma virilizante simple y en los otros dos casos (nº 6 y 46), se prolongó hasta el final de la gestación por tratarse de dos fetos mujeres afectas de forma pierde sal.

4.1.2.d. Cribado Neonatal

i. Sospecha clínica previa al resultado del cribado y motivo de sospecha

De los 46 pacientes diagnosticados mediante Cribado Neonatal, solo existía sospecha de la enfermedad en 11 de ellos (23,9%). En 35 (76,1%) pacientes la enfermedad no había sido sospechada ni por los pediatras ni por la familia, tal y como se detalla en la tabla 18 y en la figura 16.

- Pacientes con sospecha clínica de 21OHD (n=11): 3 eran forma virilizante simple y 8 pérdida salina. De la forma virilizante simple 2 eran mujeres con genitales ambiguos y 1 varón con hermano previo afecto. De los 8 pacientes con forma pierde sal 7 eran mujeres (5 con genitales ambiguos y 2 diagnosticadas por familiar previo afecto) y 1 era un varón con un hermano previo afecto.
- Pacientes sin sospecha clínica de 21OHD (n=35): 7 eran afectados de forma virilizante simple (6 varones y 1 mujer con Prader II) y 28 eran afectados de forma pérdida salina (24 varones y 4 mujeres). De las 4 mujeres sin sospecha clínica afectas de forma pérdida salina, en 3 de ellas se había realizado una asignación incorrecta de sexo al nacimiento. La otra mujer con pérdida salina sin sospecha de enfermedad presentaba un Prader III y estaba ingresada por sospecha de sepsis en un hospital.

	Global	PS		VS	
Sospecha clínica	11 (23,9%)	8 (22,2%)		3 (33,4%)	
		♂ 1	♀ 7	♂ 1	♀ 2
Sin sospecha clínica	35 (76,1%)	28 (80%)		7 (20%)	
		♂ 24	♀ 4	♂ 6	♀ 1

Tabla 18. Número de pacientes con/sin sospecha clínica de 21OHD.

Se sospechó la enfermedad en el 64,3% de las mujeres (9/14) y en el 6,3% de los varones (2/32), es decir la enfermedad se sospecha en las mujeres pero no en los varones ($p < 0,001$).

El motivo de sospecha clínica de 21OHD más frecuente fueron los genitales ambiguos en mujeres (n=7, 63,6%, de los cuales 5 eran forma pierde sal y 2 forma virilizante simple) seguido por los antecedentes familiares (n=4, 36,4%, de los cuales 3 eran forma pierde sal y 1 forma virilizante simple).

Los 7 pacientes varones afectados de forma virilizante simple fueron diagnosticados mediante el Programa de Cribado Neonatal. Sólo en uno de ellos, había sospecha previa de enfermedad por tener un hermano previo afecto de una forma virilizante.

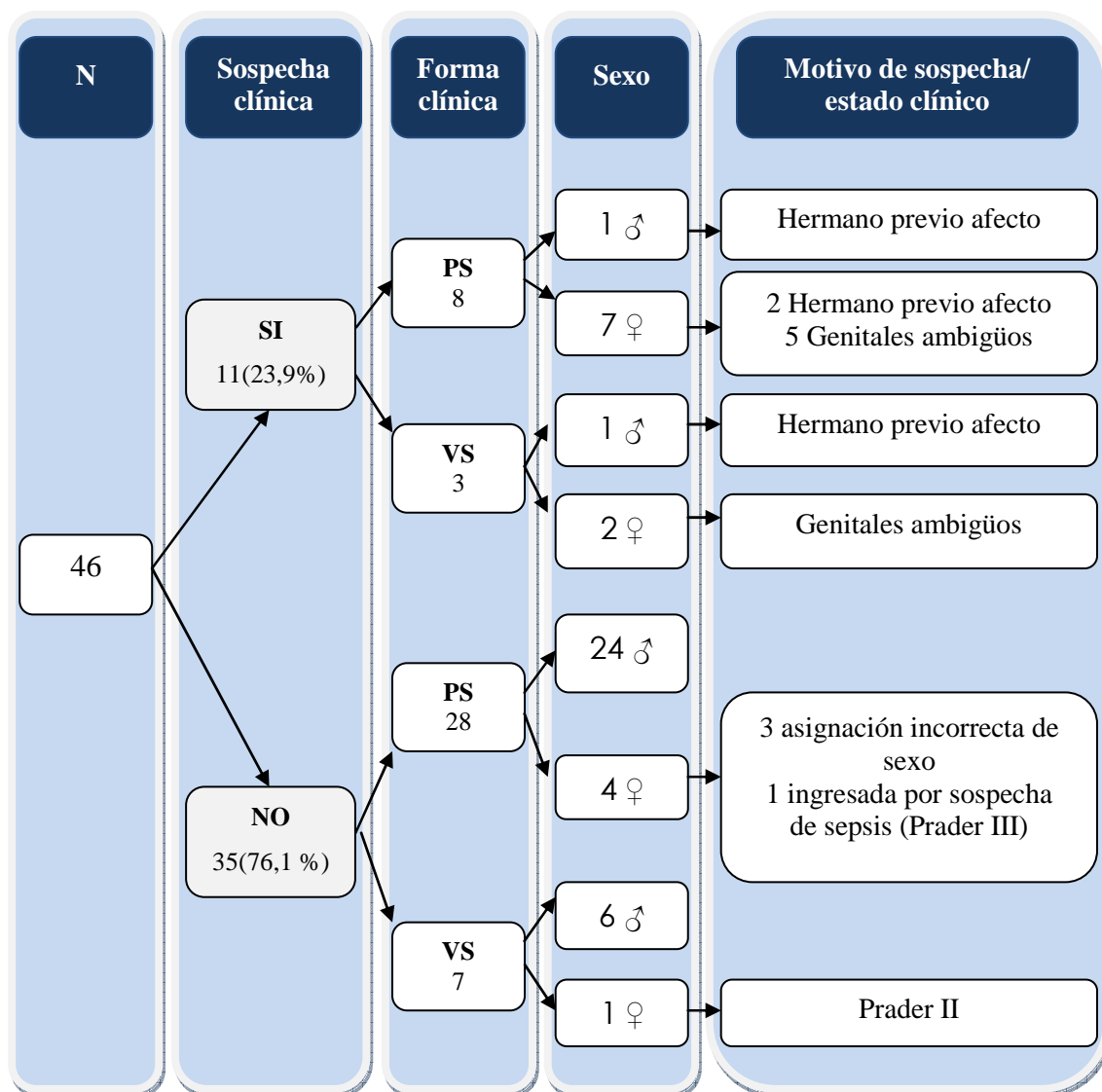


Figura 16. Representación del número de pacientes con y sin sospecha clínica de la enfermedad previo al resultado del Cribado Neonatal.

ii. Lugar donde estaba el paciente al recibir el resultado del Cribado Neonatal y motivos de hospitalización

Cuando se obtuvo el resultado del Cribado Neonatal (figura 17):

- ✓ 30 niños (65,2%) estaban en sus domicilios sin sospecha de enfermedad
- ✓ 5 (10,8%) estaban en sus domicilios pero con seguimiento hospitalario por sospecha clínica de alguna enfermedad
- ✓ 11 (24,0%) estaban ingresados en el hospital.

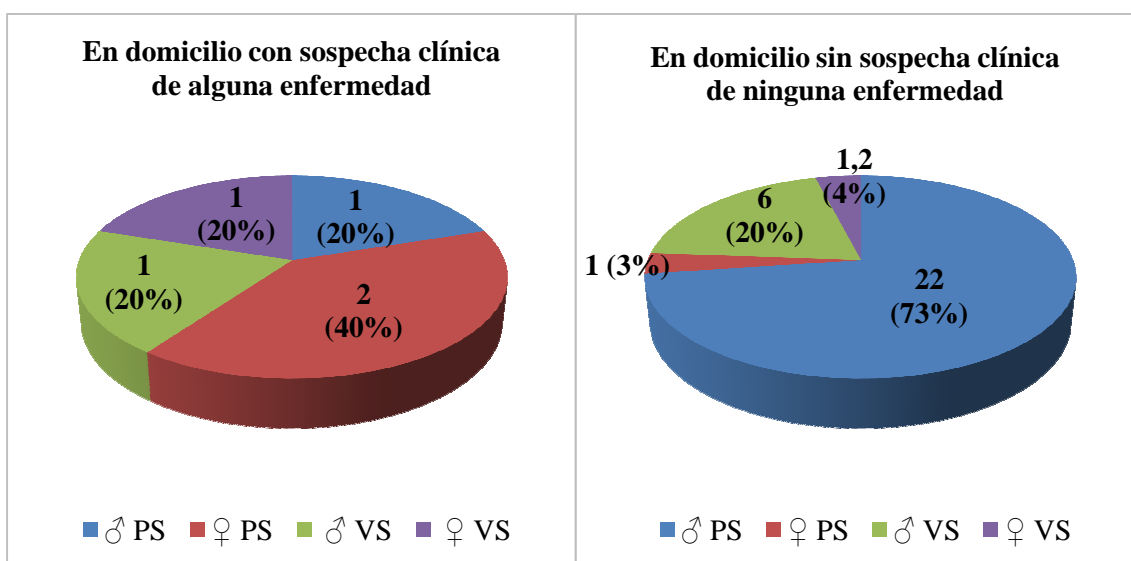
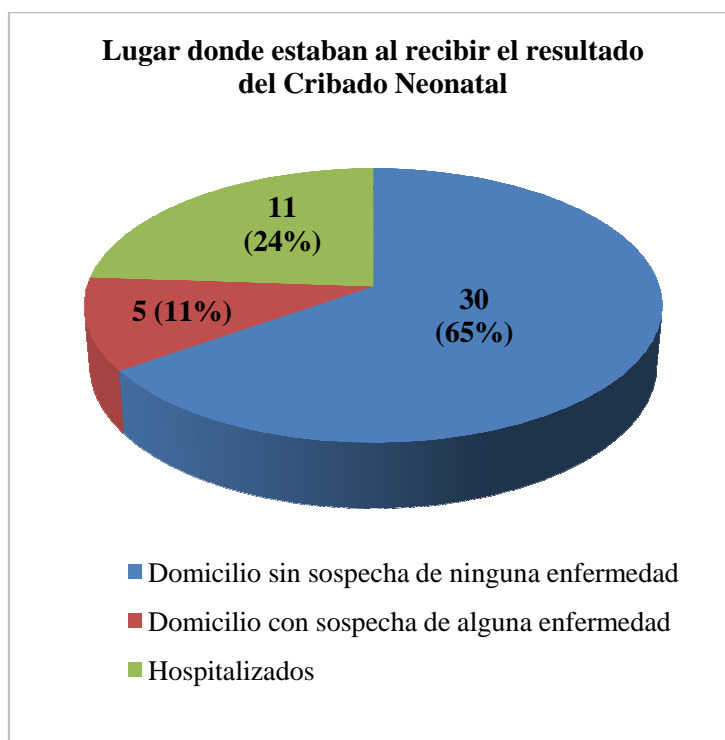


Figura 17. Representación grafica del lugar donde estaba al recibir el resultado del cribado y el grado de sospecha clínica según el sexo y la forma clínica

- Pacientes en domicilio sin sospecha clínica de enfermedad (n=30): 23 eran forma pierde sal (22 varones y 1 mujer con asignación incorrecta de sexo al nacimiento) y 7 eran forma virilizante simple (6 varones y 1 mujer con Prader II).
- Pacientes en domicilio en seguimiento por sospecha de alguna enfermedad (n=5): 2 por diagnóstico prenatal por familiar previo afecto (un varón con forma virilizante simple y una mujer con forma pérdida salina), 2 mujeres con pérdida salina con asignación incorrecta de sexo al nacimiento, etiquetadas como varones

con criptorquidia al nacer y 1 mujer con forma virilizante simple en estudio por genitales ambiguos Prader III.

Había 25 pacientes con pérdida salina (22 varones y 3 mujeres) en sus domicilios con potencial riesgo de muerte.

- Pacientes hospitalizados (n=11): 4 ingresados para estudio de genitales ambiguos, 2 por sospecha clínica de 21OHD (1 mujer con diagnóstico prenatal y 1 varón con hermano previo afecto de pérdida salina), 3 por sospecha de sepsis (2 eran mujeres con pérdida salina y 1 varón con pérdida salina), 1 por ictericia y 1 por hipoglucemias (figura 18).

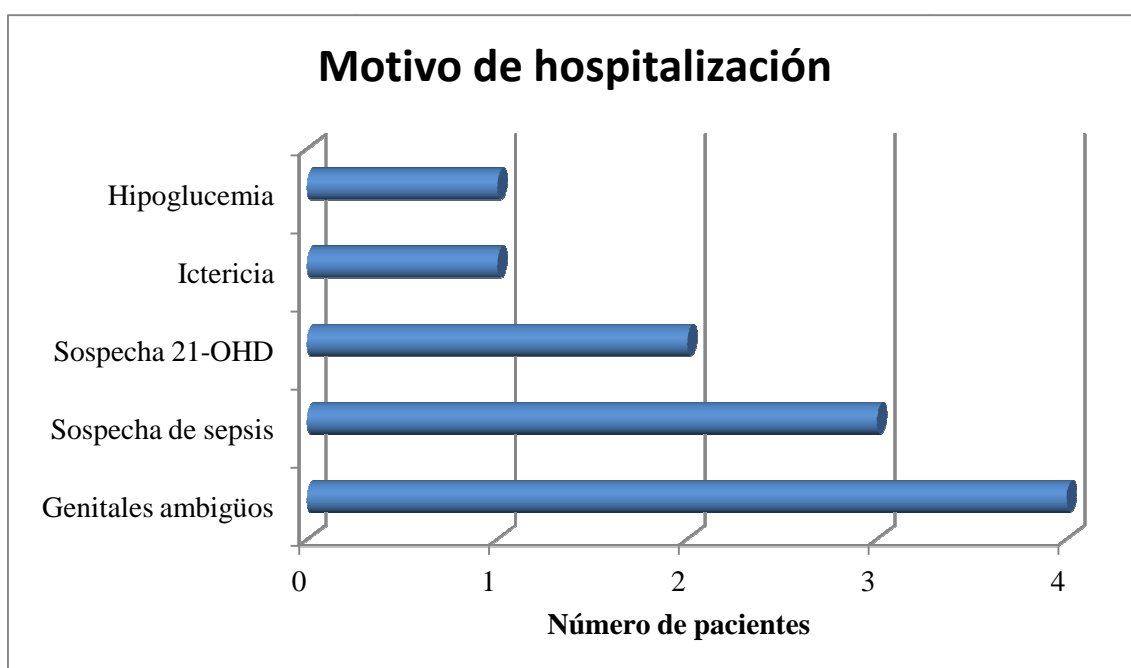


Figura 18. Representación gráfica del motivo de hospitalización de los pacientes al recibir el resultado del Cribado Neonatal

iii. Valores de 17-OHP en papel absorbente procedentes del Cribado Neonatal

El valor de 17-OHP en papel absorbente procedente de la prueba de cribado fue significativamente más elevado en el grupo de pérdida salina que en el de virilizante simple ($p < 0,001$) (tabla 19).

PAPEL ABSORBENTE				
	17 OHP inicial (nmol/L) Media ± DE Mediana (p25; p75) Mínimo, máximo		17 OHP máxima (nmol/L) Media ± DE Mediana (p25; p75) Mínimo, máximo	
PS	439,7 ± 225,3 422,5 (294,0 – 622,0) 45,4 - 900	p = 0,001	512,1 ± 201,9 477,0 (390,5 – 683,5) 77,2 – 900,0	p = 0,008
VS	65,5 ± 31,2 58,0 (38,5 – 93,0) 30,5 – 123,0		307,3 ± 191,0 271 (171,7 – 448,7) 73,0 – 687,0	

Tabla 19. Valores de 17 OHP inicial y máxima en papel absorbente (nmol/L) obtenidos en el cribado neonatal al diagnóstico según forma clínica.

El valor mínimo de 17-OHP obtenido en la primera muestra de sangre de talón extraída en la forma pérdida salina fue 45,4 nmol/L y en la forma virilizante simple 30,5 nmol/L.

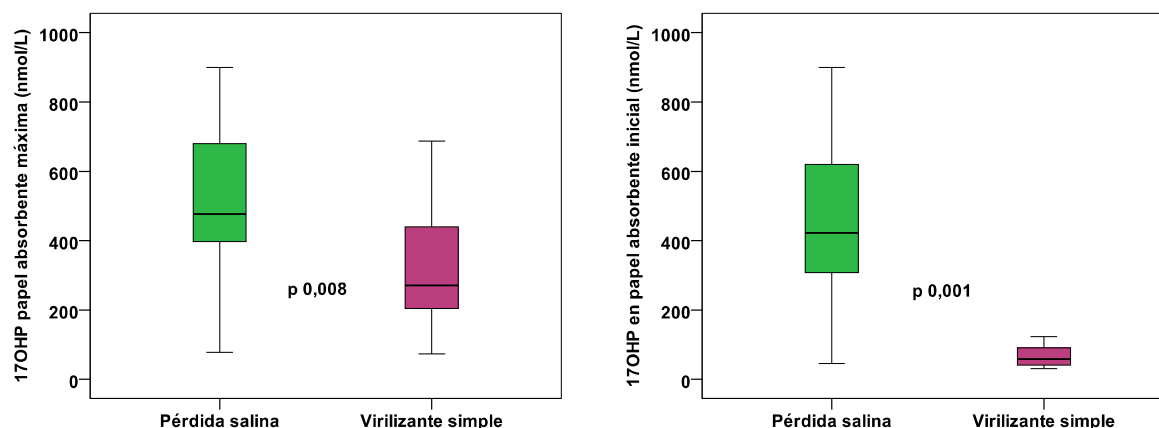


Figura 19. Representación de los valores de 17-OHP en papel absorbente iniciales (izquierda) y máximos (derecha) según forma clínica.

Los pacientes diagnosticados más precozmente fueron aquellos que presentaban cifras más elevadas de 17-OHP en papel absorbente y 17-OHP plasmática como se puede apreciar en la figura 19:

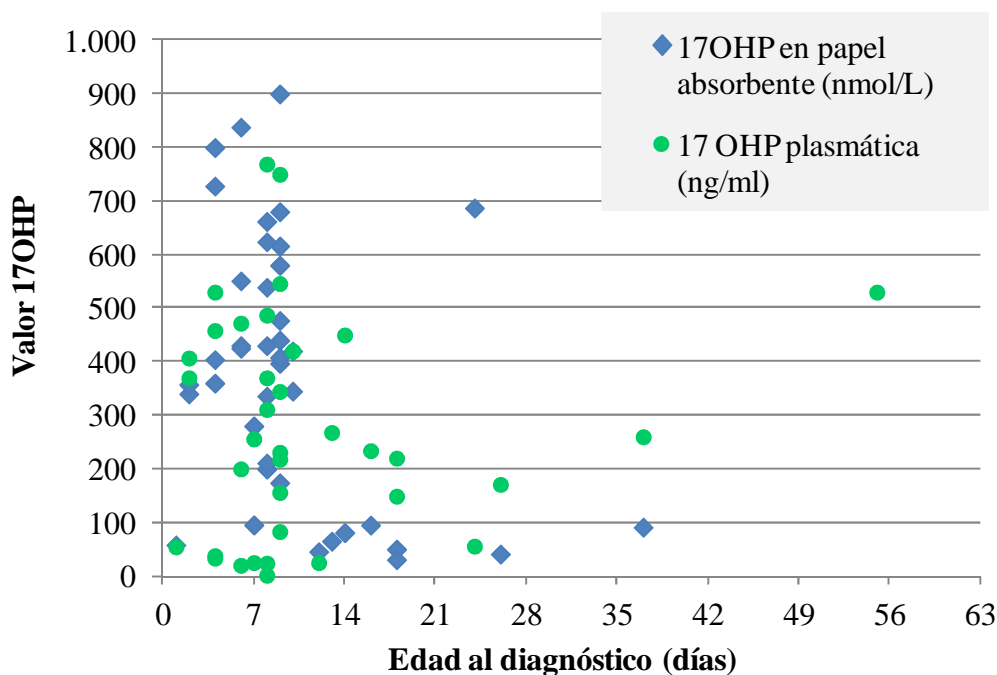


Figura 20. Valores de 17-OHP en función de la edad al diagnóstico.

Los valores más elevados de 17 OHP en papel absorbente se obtuvieron en la forma pierde sal a los 2 días (2 - 6) y en las virilizantes simples a los 18 días de vida (figura 20), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$).

Todos los pacientes afectados de forma pérdida salina fueron identificados al realizar la primera prueba de cribado, sin embargo la mayor parte de los niños afectados por la forma virilizante simple precisaron varias repeticiones de la prueba de cribado (de 2 a 4 repeticiones).

La capacidad discriminadora del valor de 17-OHP en papel absorbente para discriminar entre la forma pierde sal y la virilizante simple es un área bajo la curva (ABC ROC) 0,960 (IC 95%: 0,908; 1,000), es decir el 96% de los niños con forma pierde sal presentan valores más altos de 17-OHP que los afectados de forma virilizante simple (figura 21).

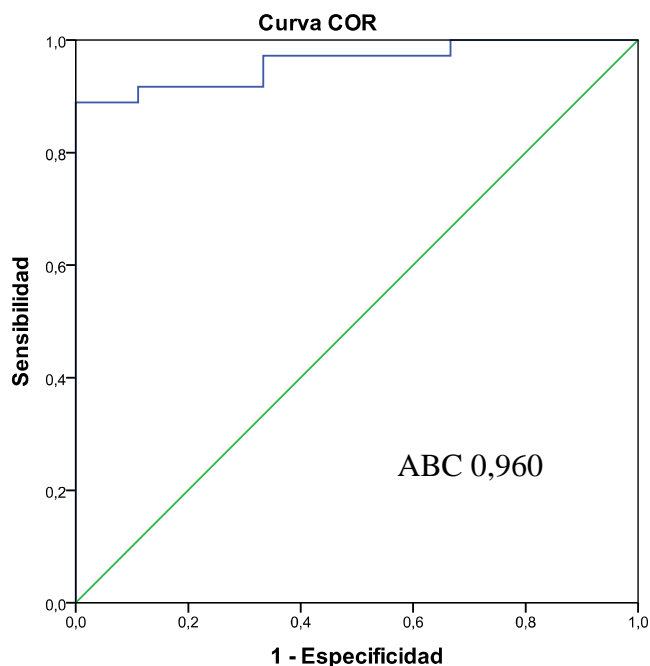


Figura 21. Curva ROC. Valor de 17-OHP en papel absorbente para distinguir entre la forma pierde sal y la virilizante simple.

Considerando como punto de corte un valor de 17-OHP igual a 95 nmol/L la sensibilidad de la prueba es 91,7% y la especificidad es 77,7%, mientras que si el punto de corte se eleva a 150 nmol/L la sensibilidad de la prueba es 88,9% y la especificidad es 100% (figura 22). El valor predictivo positivo de la prueba para un valor de corte ≥ 95 nmol/L es 94,3% y para un valor ≥ 150 nmol/L es 100%.

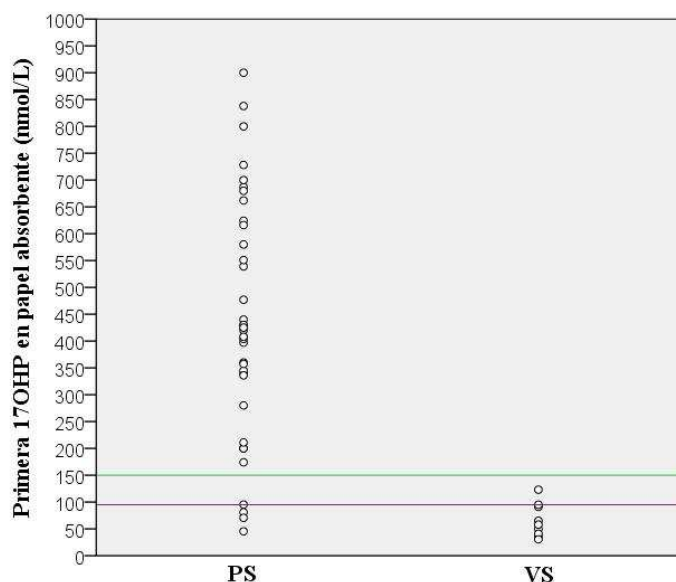


Figura 22. Representación del primer valor de 17-OHP obtenido en papel absorbente en la forma pierde sal y en la virilizante simple.

4.1.2.e. Clínica

i. Deshidratación

En 15 (33,3%) pacientes con formas pierde sal se encontraron signos incipientes de deshidratación en la primera consulta frente a 30 (66,6%) que presentó un estado de hidratación adecuada al diagnóstico. Ninguno de los pacientes con forma virilizantes simples, presentó datos de deshidratación.

ii. Hiperpigmentación

En 33 (75%) pacientes se encontraron zonas de hiperpigmentación en la exploración física realizada en la primera consulta frente a 11 (25%) que no estaban hiperpigmentados.

Las zonas afectadas con más frecuencia fueron los genitales en 26 (78,8%) pacientes, mamilas en 2 (6,1 %) y ambas zonas (genitales y mamilas) en 5 (15,1%) pacientes.

iii. Virilización de los genitales externos en mujeres

De las 14 mujeres estudiadas, 12 presentaron algún grado de virilización de los genitales externos al nacimiento y 2 nacieron con genitales femeninos normales por haber sido tratadas prenatalmente con dexametasona. En la tabla 20, se expone el grado de virilización presentada:

Grados	N (Proporción)
I	2 (14,3%)
II	1 (7,1%)
III	3 (21,4%)
IV	4 (28,6%)
V	4 (28,6%)

Tabla 20. Proporción de mujeres según escala de Prader.

En 6/14 (42,8%) de las mujeres se había realizado una asignación incorrecta del sexo al nacimiento (tabla 21). Todas ellas fueron diagnosticadas mediante Programa de Cribado Neonatal de formas clásicas de 21OHD. En la tabla se detallan los datos del diagnóstico.

Nº paciente	Forma clínica	Grado de virilización según Prader	Modo de diagnóstico	Sospecha de HSC previa al cribado	Edad al diagnóstico (días)	Valor 17 OHP papel absorbente (nmol/L)
7	PS	4	Cribado	No	8	200
9	PS	4	Cribado	Si	9	580
20	PS	5	Cribado	No	9	680
36	PS	5	Cribado	No	6	838
45	PS	5	Cribado	Si	4	728
49	PS	5	Cribado	Si	4	800

Tabla 21. Mujeres con asignación incorrecta de sexo al nacimiento.

4.1.2.f. Actitud al diagnóstico

Todos los pacientes con forma pierde sal fueron ingresados al diagnóstico: 27 (71,0%) en Cuidados Medios Neonatales y 11 (28,9 %) en Cuidados Intensivos Neonatales.

Los motivos de ingreso en Unidad de Cuidados Intensivos fueron prematuridad en 1 paciente (nº 46), diagnóstico clínico tardío por nacimiento en lugares sin Cribado Neonatal en 2 pacientes (nº 17 y 28) y en el resto de los casos fue para monitorización estrecha o por motivos organizativos de la Unidad sin que la gravedad de la enfermedad lo precisara.

De los pacientes afectos de forma virilizante simple 4 (44,4%) ingresaron en neonatos y 5 (55,6%) no precisaron hospitalización y fueron seguidos de forma estrecha en las consultas de Endocrinología Pediátrica.

El tiempo medio de ingreso en la forma pierde sal ($13,86 \pm 2,04$ días) fue superior al de las virilizantes simples ($2,75 \pm 2,75$ días) ($P = 0,007$).

4.1.2.g. Variables analíticas al diagnóstico

i. Glucemia, equilibrio ácido base e iones

El valor mediano de glucemia y pH en el momento del diagnóstico está dentro del rango de normalidad: 84 mg/dl y pH 7,35 en el grupo de pérdida salina y 83 mg/dl y pH 7,35 en el virilizante simple, respectivamente (tabla 22).

La natremia mediana en las formas con pérdida salina es de 128 nmol/L y la kalemia de 6,5 nmol/L, por tanto se aprecia una tendencia a la hiponatremia y a la hiperpotasemia al diagnóstico. En las forma virilizante simple, la natremia mediana es de 133 nmol/L y la kalemia de 5,3 nmol/L.

	Pérdida salina Media ± DE Mediana (rango intercuartílico)	Virilizante simple Media ± DE Mediana (rango intercuartílico)	P
Glucosa (mg/dl) VN: 60-100	90,7 ± 28,4 84,0 (78,0 – 98,0)	81,8 ± 5,6 83,0 (75,7 – 86,5)	0,715
Ph	7,35 ± 0,08 7,37 (7,33 - 7,41)	7,35 ± 0,06 7,36 (7,28 – 7,39)	0,690
Sodio (nmol/L) VN: 135-145	128,3 ± 7,5 128,0 (124,0 – 133,9)	132,5 ± 1,0 133,0 (131,2 – 133,0)	0,026
Potasio (nmol/L) VN: 3,5-5,2	6,7 ± 1,3 6,5 (5,8 – 7,7)	5,3 ± 0,4 5,3 (4,8 – 5,7)	0,002

Tabla 22. Valores analíticos al diagnóstico según forma clínica.

ii. Valores hormonales

17-OHP: Los valores medianos de 17-OHP obtenidos en sangre venosa al diagnóstico fueron 311 ng/ml en la forma con pérdida salina y 234 ng/ml en la virilizante simple (tabla 23). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (figura y tabla Y). En 5 pacientes afectados de forma pierde sal, el valor de 17-OHP plasmática inicial fue >25 ng/ml. No se realizó dilución de la muestra por lo que no se ha podido obtener el valor real de 17-OHP plasmática.

Los valores de 17-OHP en papel absorbente procedentes de la prueba de cribado fueron significativamente más elevados en el grupo con pérdida salina que en el de virilizantes simples (P= 0,008) (figura 23).

	17-OHP papel absorbente (nmol/L)	p	17-OHP plasmática (ng/ml)	p
Pérdida salina	477,0 (390,5 – 683,5)	0,008	311,0 (69,3 – 479,5)	0,546
Virilizante simple	271,0 (171,7 – 448,7)		234,0 (160 - 276)	

Tabla 23. Valores de 17 OHP en papel absorbente y en plasma según forma clínica al diagnóstico.

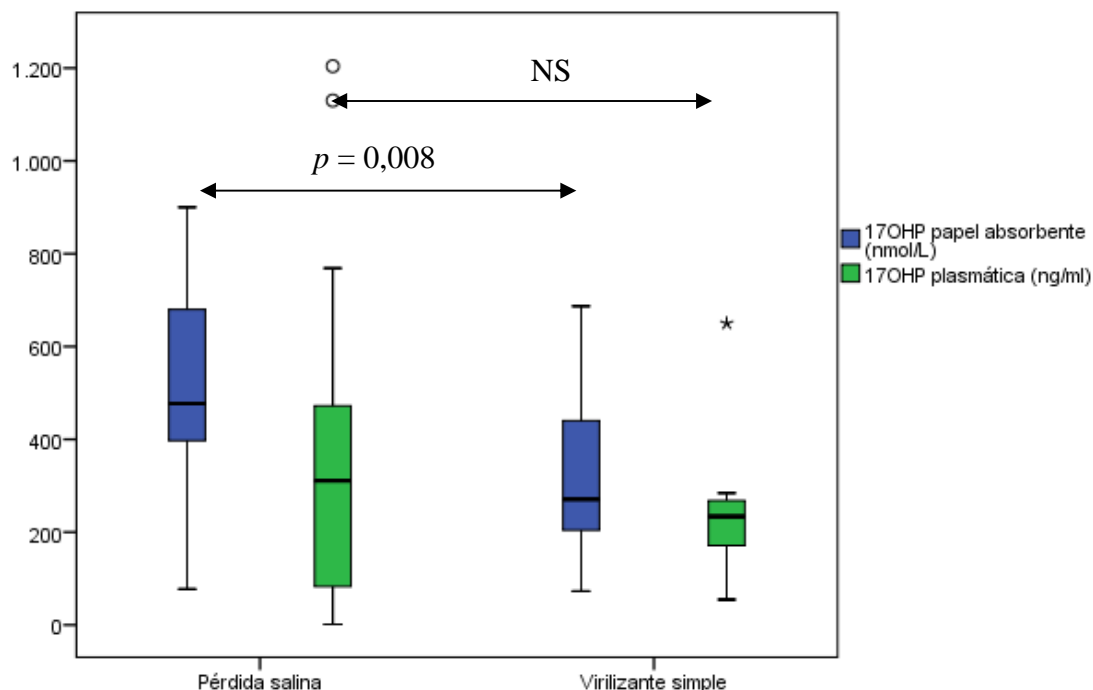


Figura 23. Valores de 17 OHP en papel absorbente y en plasma según forma clínica al diagnóstico.

DHEAS: El valor mediano de DHEAS obtenido en el grupo pierde sal fue 82,8 µg/dl. En los varones se han obtenido niveles de DHEAS superiores a los de las mujeres (115 y 20 µg/dl, respectivamente), aunque esta diferencia no ha alcanzado significación estadística (tabla 24).

Testosterona: El valor mediano de testosterona en el grupo pierde sal fue 2 ng/ml y en el virilizante simple 1 ng/ml (tabla 24). En las mujeres hemos encontrado niveles superiores de testosterona que en los varones (13,1 y 1,2 ng/ml, respectivamente).

ACTH: En el grupo con pérdida salina los valores medianos de ACTH fueron 121,1 ng/L (tabla 24). Las mujeres han presentado niveles superiores a los varones (165,0 y 52,8 ng/L respectivamente).

Cortisol: El valor mediano de cortisol encontrado en el grupo pierde sal fue 3,2 mg/dl. Los valores medianos de cortisol en las mujeres han sido 5 mg/dl y en los varones 3,7 mg/dl (tabla 24).

No existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de esteroides suprarrenales (17-OHP, DHEAS, Testosterona, ACTH y cortisol) entre varones y mujeres.

		17-OHP (ng/ml) VN: 0.25-3.90	DHEAS (µg/dl) VN: 120-420	Testosterona (ng/ml) VN: 2.7-8.3	ACTH (ng/L) VN: 0.8-1.8	Cortisol (mg/dl) VN: 5-25
Sexo	♂	306,3±261,2 256,0 (69,3-465,1)	116,5±79,2 115,0 (49,3-184,5)	4,7±7,4 1,2 (0,6-7,9)	173,1±263,0 52,8 (22,9-443,8)	6,6±7,0 3,7 (2,6-10,7)
	♀	368,8±317,6 311,0 (156,4-468,5)	156,4±230,9 20 (15,0-366,0)	11,8±14,0 13,1 (0,1-15,0)	263,5±235,5 165,0 (79,9-496,5)	9,0±10,7 5,0 (1,7-20,3)
Forma clínica	PS	345,1 ± 300,0 311 (69,3 – 479,5)	136,4 ± 164,1 82,8 (18,7 – 198)	8,8 ± 11,5 2,0 (0,1 – 15)	234,0 ± 250,5 121,1 (23,4 – 518,2)	6,9 ± 8,2 3,2 (2,6 – 7,3)
	VS	254,5 ± 164,7 234 (160 - 276)		1,0 ± 0,7 1,0 (0,5)		

Tabla 24. Valores hormonales de esteroides suprarrenales al diagnóstico según sexo y forma clínica.

ARP: el valor de ARP mediano (tabla 25) en el grupo con pérdida salina ha sido 20,9 µg/L/h y en el virilizante simple 32,5 µg/L/h. Aunque la ARP en el período neonatal es superior a la ARP en edades posteriores, en los pacientes con formas clásicas se han obtenidos cifras elevadas en ambos grupos.

Los valores de ARP obtenidos en mujeres (43,4 µg/L/h) son superiores a los encontrados en varones (5,3 µg/L/h) siendo esta diferencia estadísticamente significativa (p = 0,046).

Aldosterona: En el grupo pierde sal se han obtenido cifras medias elevadas de aldosterona 308 ng/L. Este valor no refleja la realidad pues la técnica presenta interferencias en la medición por otros metabolitos. Lo mismo ocurre al analizar la muestra en función del sexo (tabla 25).

		ARP (µg/L/h) VN: 0.15-2.4	Aldosterona (ng/L) VN: 10-150
Sexo	♂	14,5±18,6 5,3 (0,3-32,2)	680,4±1117,3 360,0 (50,0-624,0)
	♀	157,2±347,9 43,4 (14,9-57,1)	324,8±234,9 308,0 (105,0-534,0)
Forma clínica	PS	92,1 ± 267,0 20,9 (0,3 – 47,6)	487,3 ± 827,7 308,0 (50,0 – 501,5)
	VS	33,1 ± 26,0 32,5 (7,5)	

Tabla 25. Valores hormonales al diagnóstico de renina y aldosterona según forma clínica.

4.1.2.h. Tratamiento

i. Tratamiento inicial

a) Hidrocortisona:

La edad de inicio del tratamiento con hidrocortisona coincide con la edad al diagnóstico en la forma pierde sal (8,0 días (6,0 – 9,0)), ya que el tratamiento se inicia el día en que se realiza el diagnóstico (tabla 26 y figura 24). Sin embargo en la forma virilizante simple, el tratamiento se demora hasta los 26,0 días (22,0 – 64,0), dado que el diagnóstico en este caso puede no ser tan evidente y se ha de realizar el diagnóstico diferencial entre forma virilizante simple y elevaciones transitorias de la 17-OHP. La hidrocortisona se inicia antes en la forma pierde sal que en las virilizante simple, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.001$).

Se requiere administración intravenosa de hidrocortisona durante 5 días (3,2-7,7) en la forma pierde sal y 0,5 días (0,0-5,5) en la forma virilizante simple.

De los 10 pacientes con forma virilizante simple, sólo 2 precisaron tratamiento inicial con hidrocortisona intravenosa (paciente n° 4 iniciado el tratamiento a los 23 días de vida, precisó administración intravenosa un día y paciente n° 10 iniciado tratamiento a los 36 días de vida, fue tratado con hidrocortisona intravenosa durante 7 días).

La edad media de inicio del tratamiento con hidrocortisona por vía oral es 13 días (12-18,25) en la forma pierde sal y 34,50 (23,25- 58,50) en las virilizantes simples.

Las dosis iniciales de hidrocortisona (tabla 26) empleadas son más elevadas en la forma con pérdida salina (340 mg/m²/día (142,4 – 444,3)) que en la virilizante simple (57,2 mg/m²/día (14,3- 271,3)), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,003$). Estas dosis se disminuyen en los primeros días de vida hasta alcanzar dosis de mantenimiento.

En todos los pacientes se monitoriza la tensión arterial y se vigila de forma estrecha la aparición de efectos adversos como edemas, ganancia ponderal excesiva, alteración del metabolismo hidrocarbonado etc. Sólo se ha encontrado hipertensión arterial en una paciente prematura tratada con dexametasona durante el periodo prenatal y con dosis elevadas de hidrocortisona los primeros días de vida. Las cifras de tensión arterial fueron contraladas con hidralazina y se normalizaron con el descenso corticoideo pudiéndose retirar el fármaco antihipertensivo a los 15 días de su inicio.

b) 9 α fluorhidrocortisona:

La edad de inicio del tratamiento con 9 α fluorhidrocortisona oral es 9,0 días (7,0 - 11,0) en las formas con pérdida salina (figura 24 y tabla 26). El tratamiento se inicia coincidiendo con la disminución de las dosis de hidrocortisona intravenosas (en torno a las 24 horas del inicio del tratamiento con glucocorticoides).

De los 10 pacientes con forma virilizante simple, 3 precisaron tratamiento con mineralcorticoide desde el inicio (pacientes nº 4,10 y 21) por ARP elevada de forma mantenida. En estos pacientes el tratamiento se inició a los 16,5 días (9,0-20,0) (figura X).

En la forma pierde sal se usaron dosis medias de fludrocortisona de 0,075 mg/día (0,050 - 0,100) y en la forma virilizante simple de 0,068 mg/día (0,030 - 0,100) (tabla 26).

No se han encontrado efectos secundarios (hipertensión arterial ni hipernatremia) atribuibles a la 9 α fluorhidrocortisona. La HTA que presentó una paciente en período neonatal se inició coincidiendo con la administración de dosis elevadas de hidrocortisona intravenosa, antes de haberse iniciado el tratamiento con mineralcorticoides.

c) Cloruro sódico:

Tras normalizar la natremia en cada paciente, aportando suplementos de sodio intravenosos en forma de ClNa 0,9%, se iniciaron suplementos de sodio por vía oral.

Las dosis iniciales de suplementos de sodio vía oral empleadas en la forma con pérdida salina fueron de 4,10 mEq/kg/día (4-5,2) (tabla 26).

En la forma con pérdida salina, el tratamiento con suplementos de sodio orales se inicia a los 10,5 días (9-13) coincidiendo con el descenso de las dosis de hidrocortisona intravenosa.

Ningún paciente con forma virilizante simple precisó suplementos de sodio (figura 24).

Tratamiento	FC	Edad de inicio Mediana (rango intercuartílico)	Dosis de inicio Mediana (rango intercuartílico)
Hidrocortisona	PS	8 días (6-9)	340 mg/m ² /día (142,4 – 444,3)
	VS	26 días (22-64)	57,2 mg/m ² /día (14,3- 271,3)
9 α fluor- hidrocortisona	PS	9 días (7-11)	0,075 mg/día (0,050- 0,100)
	VS	16,5 días (9-20)	0,068 mg/día (0,030-0,100)
ClNa	PS	10,5 días (9-13)	4,10 mEq/kg/día
	VS	-	-

Tabla 26. Edad de inicio del tratamiento y dosis iniciales empleadas según forma clínica.

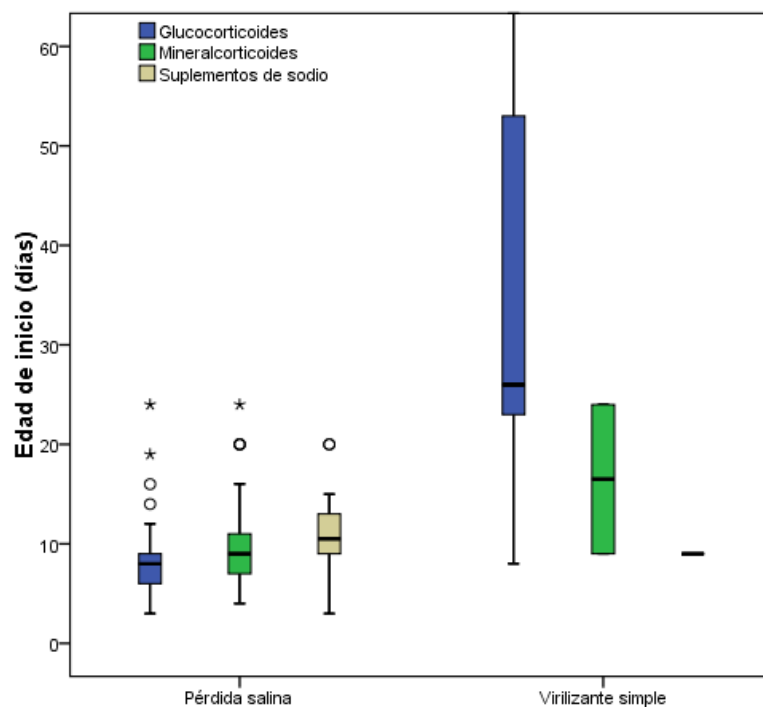


Figura 24. Edad de inicio del tratamiento con hidrocortisona, α fluorhidrocortisona y suplementos de sodio según forma clínica.

ii. Tratamiento de mantenimiento

Las dosis de mantenimiento de hidrocortisona (20-25 mg/m²/día) se alcanzaron en la forma pierde sal a los 60,8 días (45,6-91,2) y en la virilizante simple a los 42,4 días (36,4-91,2), sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas.

En la forma con pérdida salina, las dosis de hidrocortisona iniciales son mayores y el tratamiento se instaura más precozmente que en las virilizantes simples. Las dosis de mantenimiento se alcanzan antes en la forma virilizante simple que en las pierde sal, como se aprecia en la figura 25.

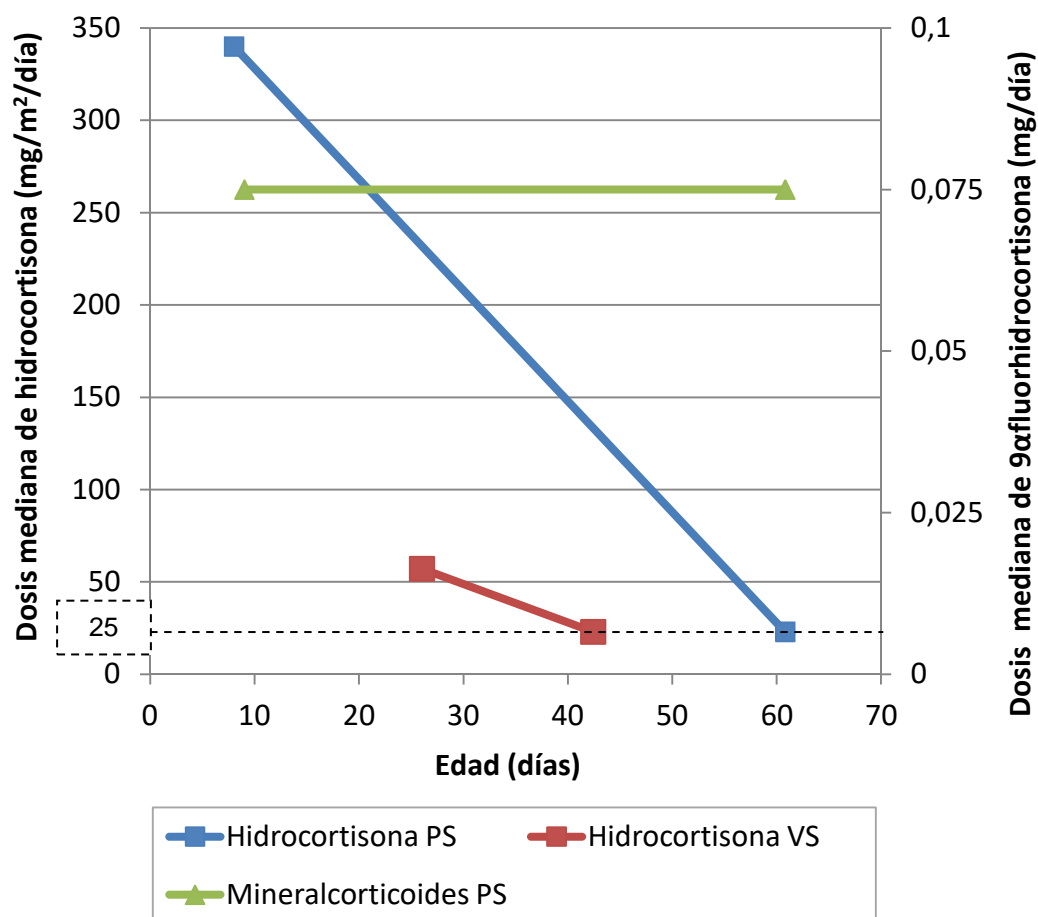


Figura 25. Representación de la edad de inicio y edad a la que se alcanzó las dosis de mantenimiento del tratamiento con hidrocortisona y 9αfluorhidrocortisona según forma clínica.

En la tabla 27 se recoge la edad de diagnóstico, inicio de tratamiento de hidrocortisona e inicio de dosis de mantenimiento de hidrocortisona, según sexo y forma clínica. Los pacientes con forma virilizante simple se diagnostican más tarde y consecuentemente se inicia el tratamiento de forma más tardía que en la forma pierde sal, siendo en ambos casos las diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,003$ y $p < 0,001$ respectivamente). Aunque las dosis de mantenimiento se alcanzan antes en la forma virilizante simple que en la forma con pérdida salina, no se ha encontrado significación estadística. Asimismo, los varones se diagnostican más tarde que las mujeres ($p = 0,018$) pero posteriormente no se encuentran diferencias en la edad de inicio de hidrocortisona ni en la edad a la que se alcanza el tratamiento de mantenimiento.

		Diagnóstico (días)	Inicio hidrocortisona (días)	Inicio dosis mantenimiento hidrocortisona (días)
Sexo	V	9,00 (8,00-15,00)	9,00 (8,00-21,00)	60,83 (45,41-91,24)
	M	5,50 (2,00-9,00)	8,00 (5,00-10,75)	60,83 (43,16-114,06)
Forma clínica	PS	8,00 (6,00-9,00)	8,00 (6,00-9,00)	60,83 (45,62-91,24)
	VS	18,00 (14,5-37,5)	26,00 (22,00-64,00)	42,41 (36,41-91,24)

Tabla 27. Diagnóstico, inicio de tratamiento con hidrocortisona e inicio de dosis de mantenimiento en función del sexo y forma clínica.

4.1.3. Genética

En la tabla 28, se describe el genotipo de todos los pacientes incluidos, detallando la mutación heredada por cada progenitor.

El tipo de alteración más frecuente encontrada en nuestra muestra son las deleciones/conversiones presentes en 30/98 alelos (30,61%). La mutación puntual c.293-13C>G se ha encontrado en 23/98 alelos (24%).

Existe buena correlación genotipo-fenotipo salvo en los pacientes 12, 14 y 15 en los que el fenotipo esperado en base al genotipo (mutación grave en un alelo y leve en el otro) correspondería a una forma no clásica pero el comportamiento clínico es de forma virilizante simple. Los pacientes 12 y 15 han presentado un fenotipo de forma virilizante simple leve basado en signos visibles de virilización desde período neonatal (macrogenitalismo), hiperpigmentación de mamilas y genitales y elevación de 17-OHP en papel absorbente (73 y 307 nmol/L, respectivamente), confirmado en suero (102 y 171 ng/ml, respectivamente). El paciente 14 presentó un fenotipo muy virilizante con cifras de 17-OHP elevadas en papel absorbente y sangre venosa (88,6 nmol/L y 268 ng/ml, respectivamente) y precisó tratamiento con fludrocortisona desde la etapa puberal por elevación de la actividad de renina plasmática.

Num Pte.	Genotipo (Nomenclatura HGVS NM.000500.5)		Forma clínica
	Alelo materno	Alelo paterno	
1	c.1069C>T (p.Arg357Trp)	Conversión del gen que incluye c.293-13 C>G; c.332_339del	PS
2	c.844G>T (p.Val282Leu); c.923dupT (p.Leu308PhefsX6)	c.1069C>T (p.Arg357Trp)	PS
3	c.518T>A (p.Ile173Asn); c.955C>T (p.Gln319X)	c.1069C>T (p.Arg357Trp)	PS
4	c.518T>A (p.Ile173Asn)	Deleción del gen	VS
5	Conversión del gen que incluye exones 4-7	c.293-13 C>G	PS

Num Pte.	Genotipo (Nomenclatura HGV NM.000500.5)		Forma clínica
	Alelo materno	Alelo paterno	
6	Conversión del gen que incluye exones 4-7	c.293-13 C>G	PS
7	c.332_339del	Delección del gen con punto de ruptura entre exones 3-4	PS
8	c.293-13 C>G	Delección del gen	PS
9	c.844G>T (p.Val282Leu); c.923dupT (p.Leu308PhefsX6)	Conversión del gen que incluye c.293-13 C>G; c.332_339del	PS
10	c.518T>A (p.Ile173Asn)	c.955C>T (p.Gln319X)	VS
11	c.518T>A (p.Ile173Asn)	Conversión del gen que incluye c.293-13 C>G; c.332_339del	VS
12	c.293-13 C>G	c.844G>T (p.Val282Leu)	VS
13	c.293-13 C>G	Delección del gen	PS
14	c.1069C>T (p.Arg357Trp)	c.844G>T (p.Val282Leu)	VS
15	c.1360C>T(p.Pro454Ser)	c.92C>T (p.Pro31Leu)	VS
16	c.293-13 C>G	c.293-13 C>G	PS
17	Conversión del gen que incluye c.293-13 C>G; c.332_339del	Conversión del gen	PS
18	c.293-13 C>G	c.844G>T (p.Val282Leu); c.923dupT (p.Leu308PhefsX6)	PS
19	c.955C>T (p.Gln319X)	c.293-13 C>G; c.844G>T (p.Val282Leu)	PS
20	c.293-13 C>G	c.955C>T (p.Gln319X)	PS
21	c.518T>A (p.Ile173Asn)	Conversión del gen que incluye c.293-13 C>G; c.332_339del	VS
22	c.1069C>T (p.Arg357Trp)	c.955C>T (p.Gln319X)	PS
23	c.518T>A (p.Ile173Asn)	Conversión del gen que incluye c.293-13 C>G; c.332_339del	VS
24	c.955C>T (p.Gln319X); c.1069C>T (p.Arg357Trp)	c.955C>T (p.Gln319X)	PS
25	c.518T>A (p.Ile173Asn)	c.862.G>C (p.Asp287His)	VS
26	Delección del gen con punto de ruptura entre exones 3-4	c.293-13 C>G	PS
27	c.923dupT (p.Leu308PhefsX6)	Delección del gen con punto de ruptura entre exones 3-4	PS
28	Conversión del gen	c.293-13 C>G	PS
29	c.293-13 C>G	Conversión del gen que incluye c.293-13 C>G; c.332_339del	PS
30	c.955C>T (p.Gln319X)	c.[701T>A;713T>A;719T>A] (p.Ile237Asn;Val238Glu;Met240 Lys)	PS
31	c.293-13 C>G	c.1069C>T (p.Arg357Trp)	PS
32	Conversión del gen	Conversión del gen que incluye c.293-13 C>G; c.332_339del	PS

Num Pte.	Genotipo (Nomenclatura HGV NM.000500.5)		Forma clínica
	Alelo materno	Alelo paterno	
33	c.955C>T (p.Gln319X)	c.293-13 C>G	PS
34	Conversión del gen	Conversión del gen que incluye c.293-13 C>G; c.332_339del	PS
35	c.955C>T (p.Gln319X)	c.955C>T (p.Gln319X)	PS
36	c.955C>T (p.Gln319X)	c.955C>T (p.Gln319X)	PS
37	c.293-13 C>G	c.955C>T (p.Gln319X)	PS
38	c.955C>T (p.Gln319X)	Conversión del gen	PS
39	c.1069C>T (p.Arg357Trp)	c.1069C>T (p.Arg357Trp)	PS
40	c.923dupT (p.Leu308PhefsX6)	Delección del gen	PS
41	Conversión del gen que incluye c.293-13 C>G; c.332_339del	c.293-13 C>G	PS
42	c.955C>T (p.Gln319X)	c.518T>A (p.Ile173Asn)	VS
43	Conversión del gen que incluye c.293-13 C>G; c.332_339del	p.Val282Leu; c.292+5G>A	PS
44	c.293-13 C>G	Conversión del gen	PS
45	c.293-13 C>G	Conversión del gen que incluye c.293-13 C>G; c.332_339del	PS
46	Conversión del gen	Conversión del gen que incluye c.293-13 C>G; c.332_339del	PS
47	c.955C>T p.Glu319X	c.293-13 C>G ; c.844G>T (p.Val282Leu)	PS
48	c.293-13 C>G	Delección que incluye los exones 3-4	PS
49	c.293-13 C>G ; c.844G>T (p.Val282Leu)	c.293-13 C>G ; c.844G>T (p.Val282Leu)	PS

Tabla 28. Genotipo de los pacientes incluidos en el estudio.

En 3 familias (4 pacientes) hemos encontrado un genotipo en homocigosis (misma mutación en los dos alelos):

- Paciente 16: no presenta antecedentes de consanguinidad
- Paciente 35 y 36: hermanos con antecedentes de consanguinidad (los padres son primos)
- Paciente 49: presenta antecedentes de consanguinidad (los padres son primos).

La homocigosis en el paciente 16 y 49 podrían explicarse porque ambos presentan mutaciones consideradas frecuentes.

Existen antecedentes de consanguinidad (padres primos) en 4 familias (6 pacientes):

- Pacientes 11 y 23 (hermanos): presentan el mismo genotipo compuesto por dos mutaciones en hemicigosis o heterocigoto compuesto (la mutación heredada del alelo paterno es distinta a la heredada del materno)
- Pacientes 35 y 36 (hermanos gemelos bicorial biamniótico): genotipo compuesto por dos mutaciones en homocigosis (presentan la misma mutación en el alelo heredado del padre y en el heredado de la madre).
- Paciente 40: presenta un genotipo heterocigoto compuesto (la mutación heredada del alelo paterno es distinta a la heredada del materno).
- Paciente 49: genotipo compuesto por dos mutaciones en homocigosis (presentan la misma mutación en el alelo heredado del padre y en el heredado de la madre).

En nuestra muestra existen 2 pacientes con mutaciones nuevas, no descritas previamente en la literatura:

- p.Val282Leu; c.292+5G>A, encontrada en el paciente 43. Esta mutación corresponde a un fenotipo grave de pérdida salina. La asociación entre la mutación c.292+5G>A y la p.Val282Leu, es una asociación poco frecuente que ha de ser tomada en cuenta en el caso de encontrar la mutación frecuente c.292+5G>A¹⁹³.
- c.862.G>C (p.Asp287His), encontrada en el paciente 25. Se asocia con un fenotipo virilizante simple.

4.2. Valoración durante el seguimiento

4.2.1. Valoración durante los tres primeros años de vida

4.2.1.a. Proporción de pacientes

	Al diagnóstico	3m	6m	12m	24m	36m	Pubertad	Edad adulta
PS	38	38	36	35	34	33	10	7
VS	8	8	7	7	9	9	8	6
n	46	46	43	42	43	42	18	13

Tabla 29. Proporción de pacientes en cada momento de estudio.

4.2.1.b. Valoración del peso

El Z-score medio del peso encontrado en nuestros pacientes es:

- Al nacimiento: $0,13 \pm 1,13$ (IC 95%: -0,19; 0,46)
- A los 3 meses: $-0,90 \pm 1,47$ (IC 95%: -1,34;-0,46)
- A los 6 meses: $-0,97 \pm 1,21$ (IC 95%: -1,34; -0,60)
- A los 12 meses: $-1,11 \pm 1,02$ (IC 95%: -1,42;-0,79)
- A los 24 meses: $-0,83 \pm 0,95$ (IC 95%: -1,13;-0,54)
- A los 36 meses: $-0,24 \pm 1,06$ (IC 95%: -0,57; 0,08)

El Z-score medio del peso de nuestros pacientes durante los 3 primeros años de vida se sitúa ligeramente por debajo de la media poblacional.

Al valorar el peso en función de la forma clínica en los tres primeros años de vida, el Z-score del peso se sitúa en ambos grupos por debajo de la media poblacional sin haberse encontrado diferencias estadísticamente significativas entre las dos formas clínicas (tabla 30).

El Z-score del peso en las mujeres es inferior al de los varones en los primeros años de vida. Esta diferencia aumenta a los 3 años de edad, presentando las mujeres un peso ($-0,76 \pm 0,67$) significativamente ($p = 0,035$) inferior al de los varones ($-0,04 \pm 1,13$) (tabla 31).

		RN	3 meses	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses
PS	Peso (kg)	$3,26 \pm 0,60$	$5,59 \pm 1,06$	$7,13 \pm 1,07$	$8,86 \pm 1,26$	$11,62 \pm 1,45$	$14,42 \pm 2,07$
	Z-score peso	$0,14 \pm 1,20$	$-0,94 \pm 1,60$	$-1,01 \pm 1,28$	$-1,15 \pm 1,02$	$-0,80 \pm 0,97$	$-0,23 \pm 1,10$
VS	Peso (kg)	$3,18 \pm 0,39$	$5,86 \pm 0,45$	$7,31 \pm 0,78$	$9,01 \pm 1,32$	$11,37 \pm 1,35$	$14,35 \pm 1,94$
	Z-score peso	$0,10 \pm 0,88$	$-0,73 \pm 0,53$	$-0,76 \pm 0,90$	$-0,94 \pm 1,07$	$-0,95 \pm 0,92$	$-0,30 \pm 0,96$
p	Z-score peso	0,793	0,467	0,622	0,702	0,628	0,780

Tabla 30. Evolución del peso, comparativa entre el grupo de pérdida salina y el de virilizante simple.

		RN	3 meses	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses
Varones	Peso (kg)	3,35 ± 0,43	5,84 ± 0,87	7,45 ± 0,86	9,29 ± 1,07	11,90 ± 1,34	14,92 ± 2,01
	Z-score peso	0,23 ± 1,08	-0,79 ± 1,20	-0,81 ± 1,17	-0,94 ± 0,99	-0,71 ± 0,98	-0,04 ± 1,13
Mujeres	Peso (kg)	2,99 ± 0,76	5,18 ± 1,12	6,47 ± 1,07	7,84 ± 1,12	10,70 ± 1,27	13,08 ± 1,39
	Z-score peso	-0,09 ± 1,25	-1,17 ± 1,98	-1,34 ± 1,27	-1,54 ± 1,01	-1,16 ± 0,81	-0,76 ± 0,67
<i>p</i>	Z-score peso	0,496	0,608	0,247	0,081	0,289	0,035

Tabla 31. Evolución del peso, comparativa entre el grupo de varones y mujeres.

En las figuras 26 y 27, se representan los datos de peso y Z-score del peso durante los 3 primeros años de vida en varones y en mujeres.

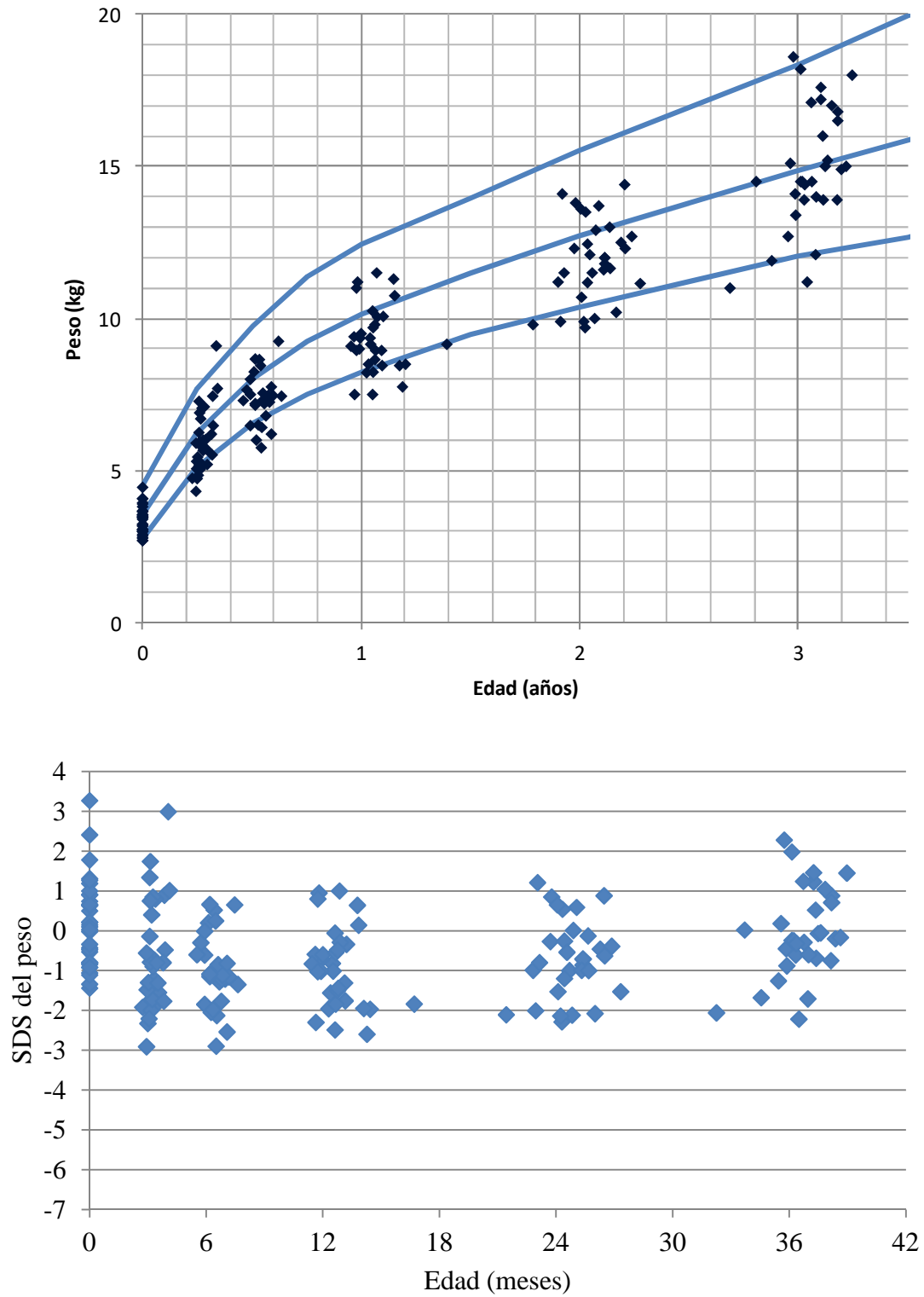


Figura 26. Representación del peso y Z-score del peso en varones durante los 3 primeros años de vida.

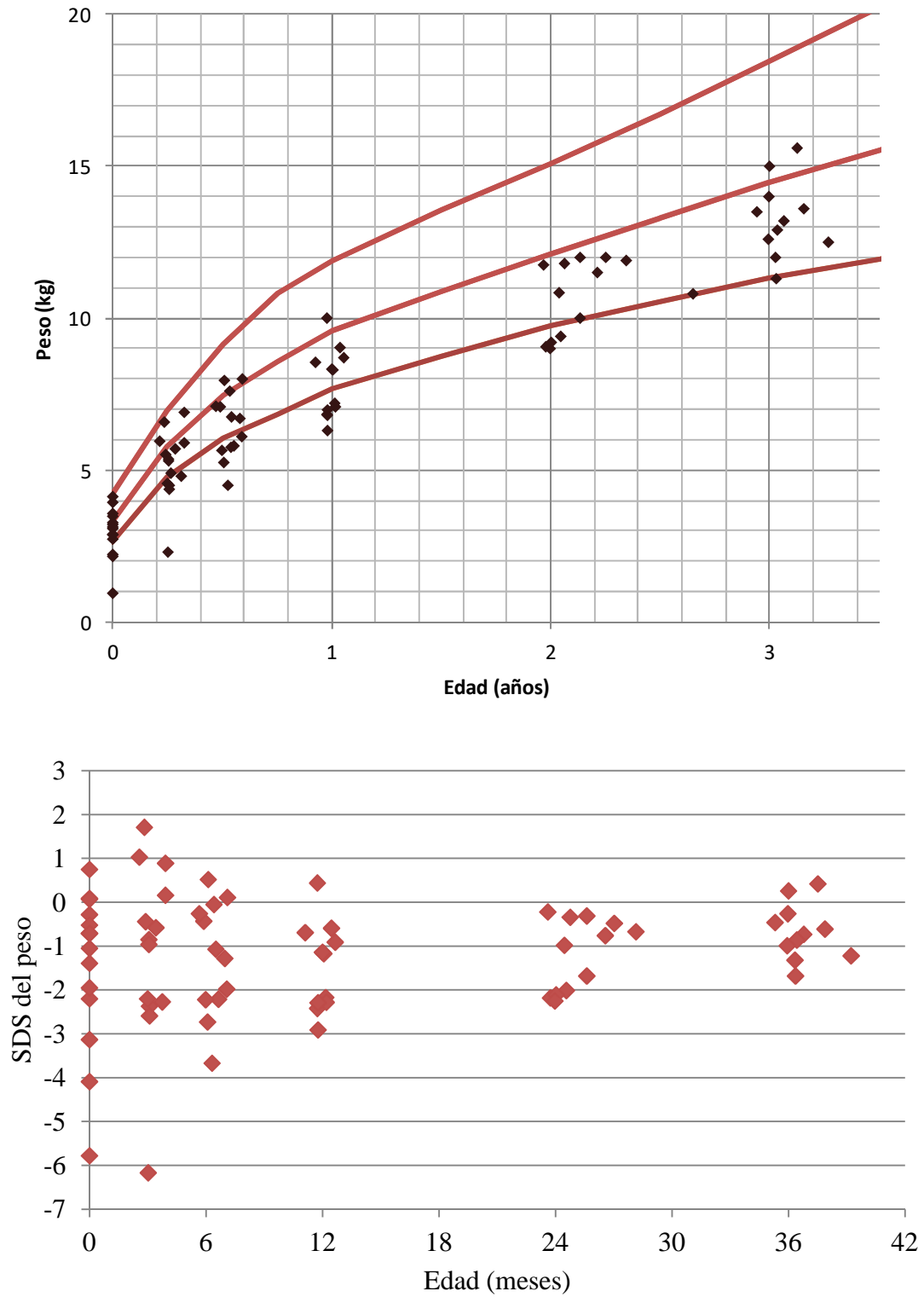


Figura 27. Representación del peso y el Z-score del peso en mujeres durante los 3 primeros años de vida.

4.2.1.c. Valoración de la talla

El Z-score medio de la talla encontrado en nuestros pacientes es:

- Al nacimiento: $0,11 \pm 1,42$ (IC 95%: -0,30; 0,53)
- A los 3 meses: $-0,91 \pm 1,47$ (IC 95%: -1,35; -0,48)
- A los 6 meses: $-0,98 \pm 1,28$ (IC 95%: -1,37; -0,59)
- A los 12 meses: $-0,91 \pm 1,12$ (IC 95%: -1,25; -0,56)
- A los 24 meses: $-1,02 \pm 0,82$ (IC 95%: -1,28; -0,76)
- A los 36 meses: $-1,46 \pm 0,90$ (IC 95%: -1,73; -1,18)

Desde los 3 meses de edad hasta los 3 años, nuestros pacientes crecen ligeramente por debajo de la media poblacional siendo la diferencia más acentuada a los 3 años de edad. Presentaron talla baja (<2DE) los siguientes pacientes:

- Al nacimiento: 4 pacientes presentaron longitud inferior a -2DE: -2,09; -2,21; -2,47 y -3,28.
- A los 3 meses: 8 pacientes presentaron el Z-score de talla situado en -2,17; -2,25; -2,30; -2,33; -2,63; -2,86; -3,73 y -7,44 DE.
- A los 6 meses: 9 pacientes presentaban Z-score inferior a -2DE: 2 en -2,08 y el resto en -2,15; -2,19; -2,28; -2,41; -2,70; -3,20 y -4,81 DE.
- Al año de edad: 5 pacientes presentaban talla inferior a -2 DE: -2,06; -2,35; -2,43; -2,97 y -3,70 DE.
- A los 2 años: 4 pacientes tenían talla baja situada en -2,09; -2,84; -2,94 y -3,14 DE.
- A los 3 años: 9 pacientes presentaban talla baja situada en -2,05; -2,37; -2,61; -2,65; -2,67; -2,86; -3,06; -3,09 y -3,83 DE.

Cabe destacar, el caso particular de la paciente nº 46, afecta de forma pierde sal, que fue tratada prenatalmente con dexametasona y nació a las 31 semanas de edad gestacional. La longitud al nacimiento estaba en -2,47 DE, a los 3 meses descendió hasta -7,44 DE (calculada por edad cronológica), a los 6 meses en -4,81 DE, al año en -3,70 DE, a los 2 años en -1,94 DE y a los 3 años en -2,65 DE.

El crecimiento no difiere según la forma clínica en los tres primeros años de vida. Tanto los pacientes afectos de forma pierde sal como de virilizante simple crecen por debajo

de la media poblacional, sin encontrarse diferencias entre ambos grupos. Sin embargo si lo hace en función del sexo. El Z-score de la talla en las mujeres es significativamente menor al de los varones, durante los 3 primeros años de vida, llegando a alcanzar diferencias estadísticamente significativas a los 3 años de edad (p 0,014). A continuación se detalla la talla media presentada por los pacientes durante los 3 primeros años de vida, en función de la forma clínica (tabla 32) y del sexo (tabla 33).

		RN	3 meses	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses	Talla genética
PS	Talla (cm)	49,73 ± 3,48	58,63 ± 3,28	64,76 ± 2,87	72,98 ± 3,36	84,22 ± 2,59	92,86 ± 3,84	172,84 ± 7,85
	Z-score talla	0,12 ± 1,41	-1,04 ± 1,56	-1,08 ± 1,33	-0,96 ± 1,16	-0,99 ± 0,79	-1,47 ± 0,90	0,27 ± 0,84
VS	Talla (cm)	49,60 ± 2,13	60,43 ± 1,69	65,43 ± 1,52	72,81 ± 2,63	83,66 ± 3,36	93,33 ± 3,77	168,92 ± 8,27
	Z-score talla	0,05 ± 1,53	-0,31 ± 0,66	-0,54 ± 0,92	-0,70 ± 0,97	-1,14 ± 1,00	-1,42 ± 0,94	-0,31 ± 0,83
p	Z-score talla	0,929	0,130	0,247	0,452	0,607	0,780	0,131

Tabla 32. Evolución de la talla, comparativa entre pérdida salina y virilizante simple.

		RN	3 meses	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses	Talla genética
Varones	Talla (cm)	50,06 ± 2,37	59,64 ± 2,39	65,48 ± 2,43	73,95 ± 2,83	84,69 ± 2,36	93,89 ± 3,55	176,14 ± 5,61
	Z-score talla	0,07 ± 1,38	-0,75 ± 0,95	-0,86 ± 1,23	-0,77 ± 1,10	-0,91 ± 0,79	-1,25 ± 0,86	0,09 ± 0,93
Mujeres	Talla (cm)	48,85 ± 4,68	57,35 ± 4,04	63,46 ± 2,80	70,37 ± 2,73	82,58 ± 3,13	90,55 ± 3,40	163,02 ± 4,03
	Z-score talla	0,20 ± 1,56	-1,29 ± 2,26	-1,27 ± 1,39	-1,28 ± 1,13	-1,31 ± 0,89	-1,99 ± 0,80	0,30 ± 0,70
p	Z-score talla	0,545	0,702	0,607	0,314	0,243	0,014	0,131

Tabla 33. Evolución de la talla, comparativa entre el grupo de varones y mujeres.

La talla genética de nuestra muestra ha sido $176,14 \pm 5,61$ cm en varones y $163,02 \pm 4,03$ cm en mujeres. El Z score de la talla genética es $0,09 \pm 0,93$ en varones y $0,30 \pm 0,70$ en mujeres por lo que no difiere de la talla media de la población de referencia.

En las figuras 28 y 29, se representan los datos de talla y DE de la talla durante los 3 primeros años de vida en varones y en mujeres.

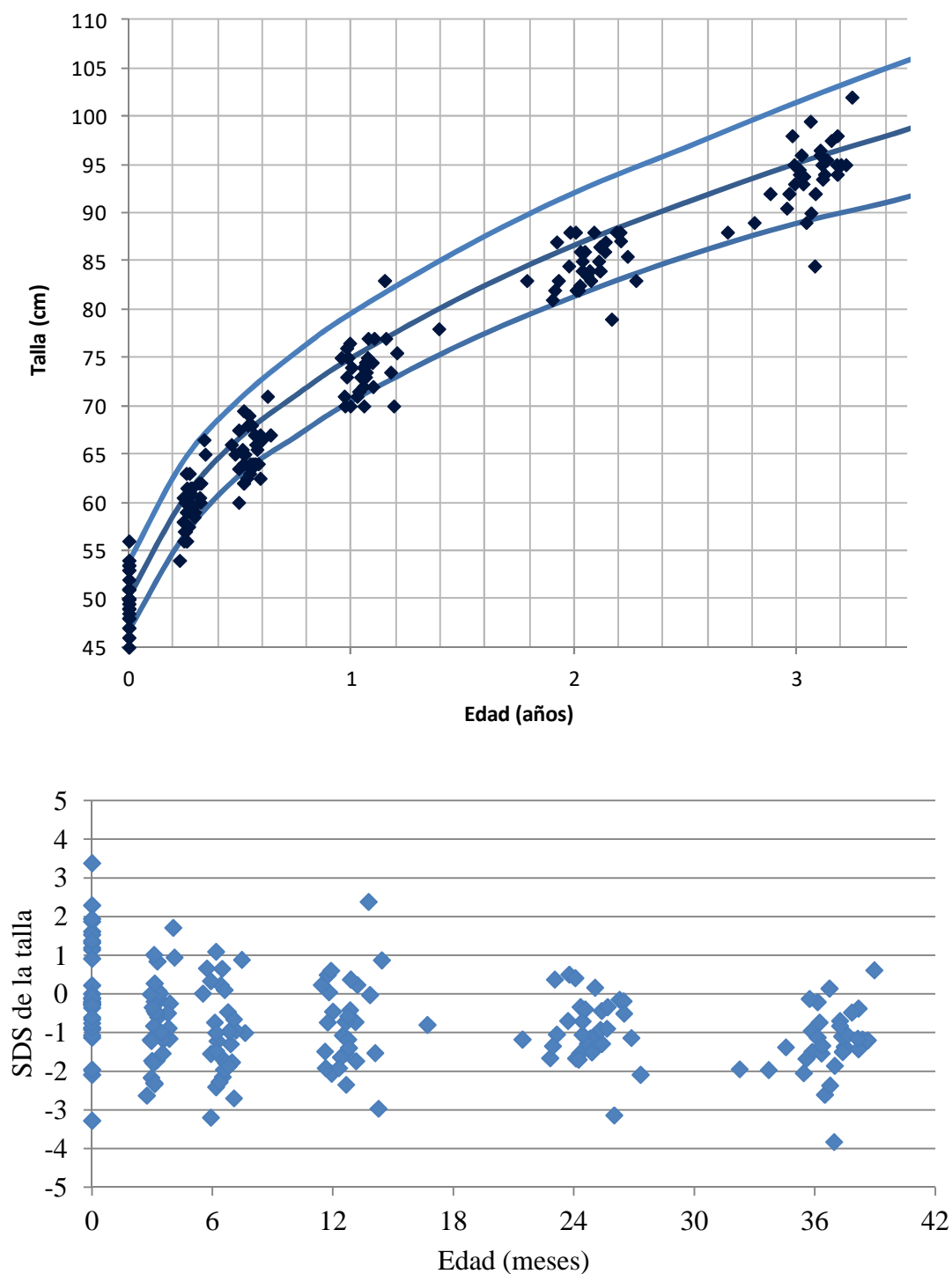


Figura 28. Representación de la talla y el Z-score de la talla en varones durante los 3 primeros años de vida.

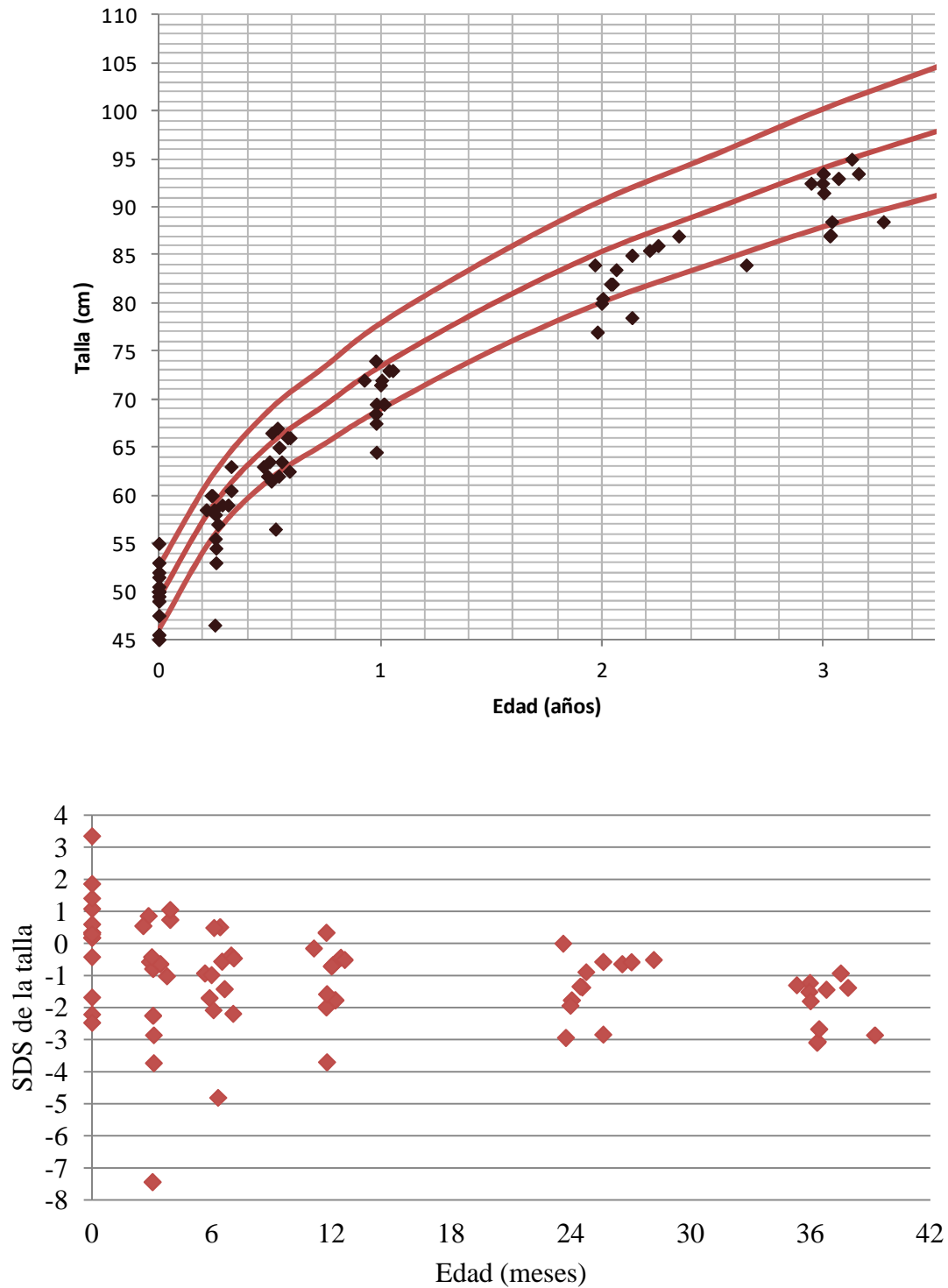


Figura 29. Representación de la talla y el Z-score de la talla en mujeres durante los 3 primeros años de vida.

Los varones con 21OHD crecen ligeramente por debajo de la población de referencia (-0,75 DE a los 3 meses, -0,86 DE a los 6 meses, -0,77 DE a los 12 meses, -0,91 DE a los 24 meses y -1,25 DE a los 36 meses).

El crecimiento de las mujeres con 21OHD es inferior al de la media poblacional (-1,29 DE a los 3 meses, -1,27 a los 6 meses, -1,28 DE a los 12 meses, -1,31 a los 24 meses y -1,99 a los 36 meses). A los 3 años de edad, las mujeres de nuestro estudio crecen peor que los varones, 2 DE por debajo de la población de referencia, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,014$) (figura 30).

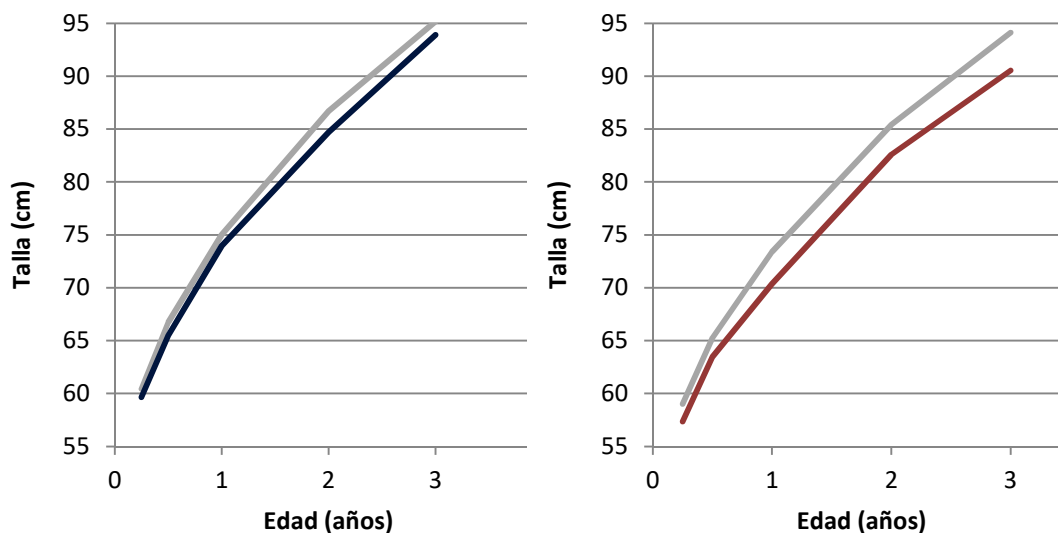


Figura 30. Representación de la talla media en varones (azul) y mujeres (rojo) respecto a la población de referencia (gris).

Los varones que presentaron talla inferior a -2 DE en los primeros tres años de vida fueron:

- Al nacimiento: 2 pacientes (nº 11 y 27) con Z-score de la talla en -3,28 y -2,09 DE, respectivamente.
- A los 3 meses: 4 pacientes (nº 3, 13, 22 y 26) con Z-score de la talla en -2,17, -2,30, -2,63 y -2,33 DE, respectivamente.
- A los 6 meses: 5 pacientes (nº 2, 3, 5, 27 y 43) con Z-score de la talla en -3,20, -2,41, -2,15, -2,28 y -2,70 DE, respectivamente.
- A los 12 meses: 3 pacientes (nº 3, 27 y 43) con Z-score de la talla en -2,06, -2,35, -2,97 DE, respectivamente.
- A los 24 meses: 2 pacientes (nº 25 y 27) con Z-score de la talla en -2,09 y -3,14 DE, respectivamente.
- A los 36 meses: 4 pacientes (nº 8, 11, 27 y 43) con Z-score de la talla en -2,61, -2,37, -3,83 y -2,05 DE, respectivamente.

Las mujeres que presentaron talla inferior a -2 DE en los primeros tres años de vida fueron:

- Al nacimiento: 2 pacientes (nº 36 y 46) con Z-score de la talla en -2,21 y -2,47 DE, respectivamente.
- A los 3 meses: 4 pacientes (nº 20, 36, 40 y 46) con Z-score de la talla en -2,25, -3,73, -2,86, -7,44 DE, respectivamente.
- A los 6 meses: 4 pacientes (nº 21, 36, 40 y 46) con Z-score de la talla en -2,08, -2,19, -2,08 y -4,81 DE, respectivamente.
- A los 12 meses: 2 pacientes (nº 21 y 46) con Z-score de la talla en -2,43 y -3,70 DE, respectivamente.
- A los 24 meses: 2 pacientes (nº 6 y 21) con Z-score de la talla en -2,84 y -2,94 DE, respectivamente.
- A los 36 meses: 5 pacientes (nº 6, 21, 36, 39 y 46) con Z-score de la talla en -3,09, -2,86, -3,06, -2,67 y -2,65 DE, respectivamente

Los pacientes que nacieron con menor longitud al nacimiento mantienen esta diferencia a los 3 años (figuras 31, 32 y 33):

- Paciente 11 (varón con forma virilizante simple): Z-score de la longitud al nacimiento -3,28 DE y a los 3 años -2,37 DE.
- Paciente 27 (varón con forma pérdida salina): Z-score de la longitud al nacimiento -2,09 DE y a los 3 años -3,83 DE
- Paciente 36 (mujer con forma pérdida salina): Z-score de la longitud al nacimiento -2,21 DE y a los 3 años -3,06 DE.
- Paciente 46 (mujer con forma pérdida salina): Z-score de la longitud al nacimiento -2,47 DE y a los 3 años -2,65 DE.

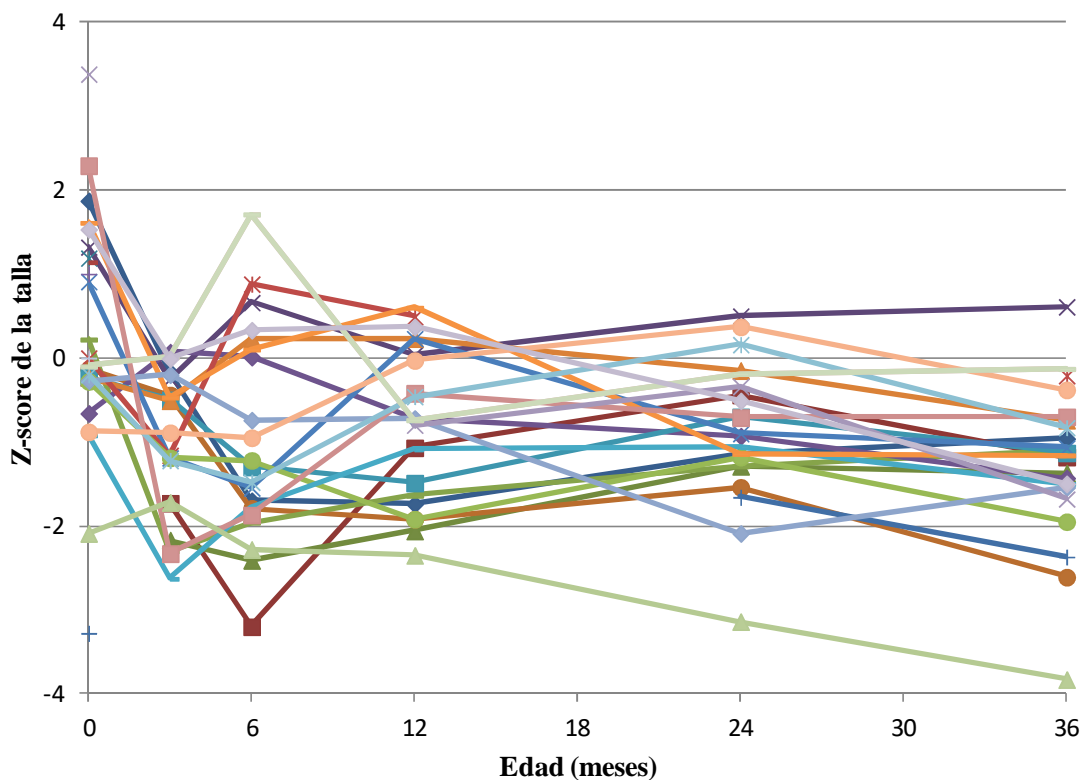


Figura 31. Representación gráfica de la evolución del Z-score de la talla en cada paciente varón en los 3 primeros años de vida.

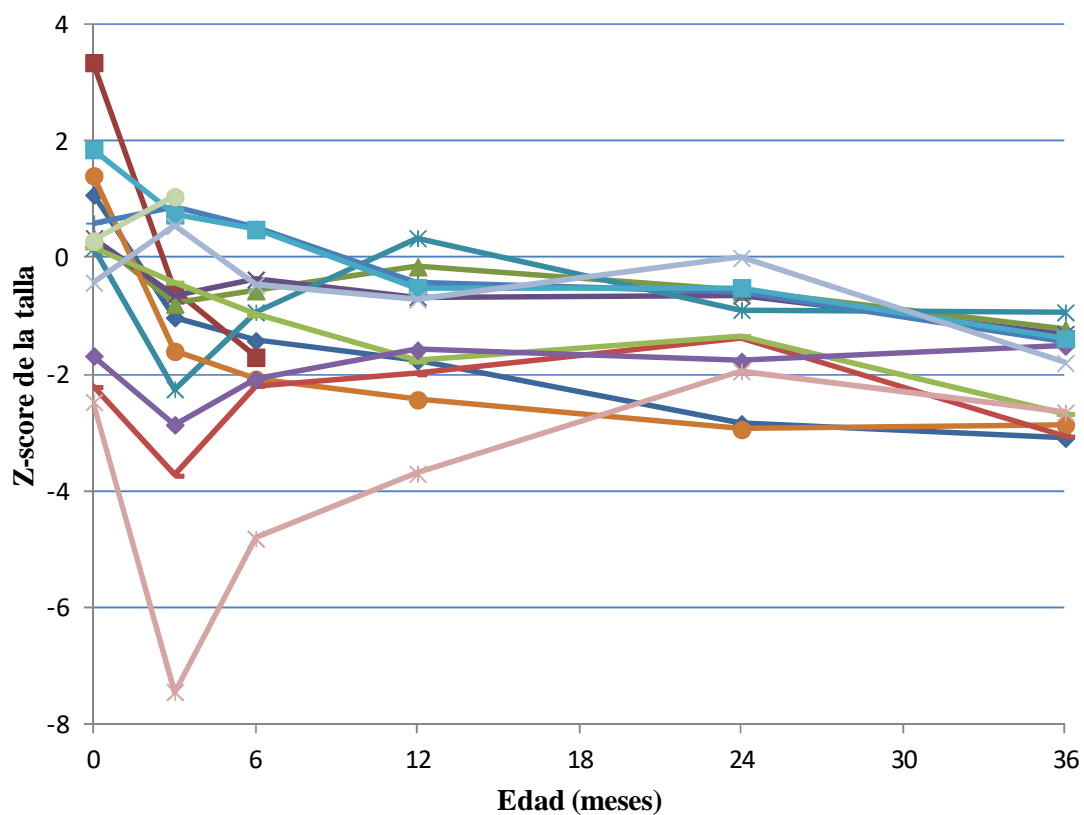


Figura 32. Representación gráfica de la evolución del Z-score de la talla en cada paciente mujer en los 3 primeros años de vida.

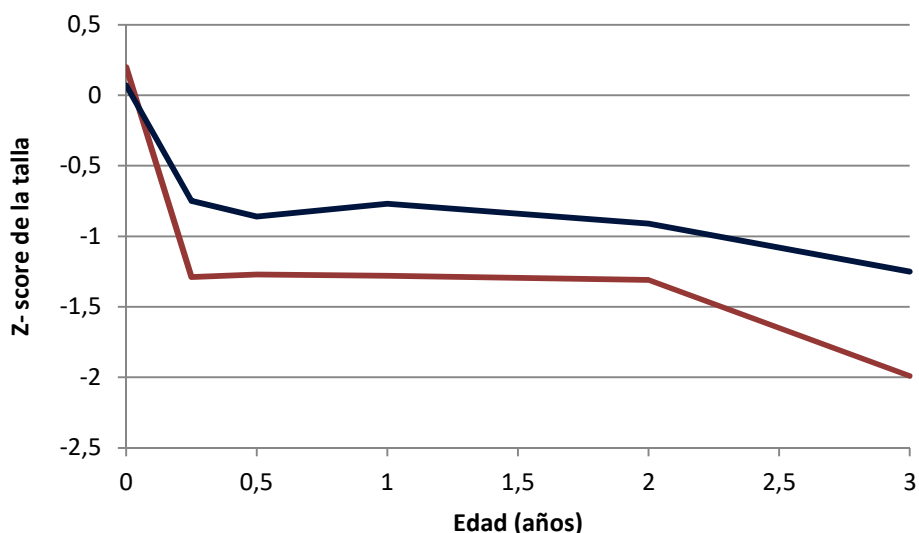


Figura 33. Representación del Z-score de la talla en varones (azul) y mujeres (rojo) en los tres primeros años de vida.

4.2.1.d. Correlación de la talla en los primeros 3 años de vida con la talla genética

Se ha correlacionado la talla de cada paciente con su talla genética (tabla 34). Al nacimiento no existen diferencias entre ambos parámetros pero posteriormente los pacientes crecen por debajo de su potencial genético ($p < 0,001$). La diferencia entre el Z-score de la talla y el Z-score de la talla genética se incrementa con la edad, siendo esta diferencia máxima a los 3 años (-1,66 DE).

Edad	DE talla-DE talla genética	p
Nacimiento	-0,15	0,534
Al diagnóstico	-0,72	0,042
3 meses	-1,18	< 0,001
6 meses	-1,21	< 0,001
12 meses	-1,16	< 0,001
24 meses	-1,22	< 0,001
36 meses	-1,66	< 0,001

Tabla 34. Correlación entre las DE de la talla y las DE de la talla genética durante el seguimiento.

4.2.1.e. Valoración de la velocidad de crecimiento

La velocidad de crecimiento (cm/año) ha sido:

- En el primer año de vida: $21,85 \pm 3,72$ (IC 95%: 20,48; 22,81)
- En el segundo año de vida: $11,75 \pm 2,65$ (IC 95%: 10,53; 12,19)

- En el tercer años de vida: $9,40 \pm 2,19$ (IC 95%: 8,15; 9,51).

El Z-score de la velocidad de crecimiento en los tres primeros años de vida ha sido:

- En el primer año: $3,79 \pm 4,41$ (IC 95%: 3,78; 6,54)
- En el segundo año: $1,59 \pm 1,61$ (IC 95%: 0,75; 1,76)
- En el tercer año: $1,10 \pm 1,79$ (IC 95%: 0,13; 1,23)

		Primer año	Segundo año	Tercer año
Varones	VC (cm/a)	$21,49 \pm 3,74$	$11,62 \pm 2,70$	$9,07 \pm 2,21$
	Z-score VC	$3,91 \pm 2,71$	$1,48 \pm 1,52$	$0,81 \pm 1,63$
Mujeres	VC (cm/año)	$22,03 \pm 3,81$	$10,71 \pm 2,51$	$8,21 \pm 2,11$
	Z-score VC	$8,27 \pm 6,19$	$0,70 \pm 1,77$	$0,35 \pm 2,20$
p	Z-score VC	0,025	0,130	0,565

Tabla 35. Evolución de la velocidad de crecimiento, comparativa entre el grupo de varones y mujeres.

El Z-score de la velocidad de crecimiento en las mujeres (8,27 DE) es superior a la de los varones (3,91 DE) en el primer año de vida, siendo esta diferencia estadísticamente significativa (p 0,025) (tabla 35). En el segundo y tercer año, no se han encontrado diferencias entre hombres y mujeres (1,48 y 0,70 DE en el segundo año; 0,81 y 0,35 DE en el tercero, respectivamente) (figuras 34 y 35). No se han encontrado diferencias en la velocidad de crecimiento entre la forma pierde sal y la virilizante simple (tabla 36).

		Primer año	Segundo año	Tercer año
PS	VC (cm/a)	21,83 ± 3,92	11,54 ± 2,78	8,64 ± 2,25
	Z-score VC	5,12 ± 4,65	1,36 ± 1,69	0,50 ± 1,86
VS	VC (cm/año)	20,83 ± 2,84	10,61 ± 1,98	9,54 ± 1,94
	Z-score VC	5,34 ± 3,44	0,82 ± 1,21	1,35 ± 1,36
<i>p</i>	Z-score VC	0,582	0,386	0,295

Tabla 36. Evolución de la velocidad de crecimiento, comparativa entre la forma pierde sal y virilizante simple.

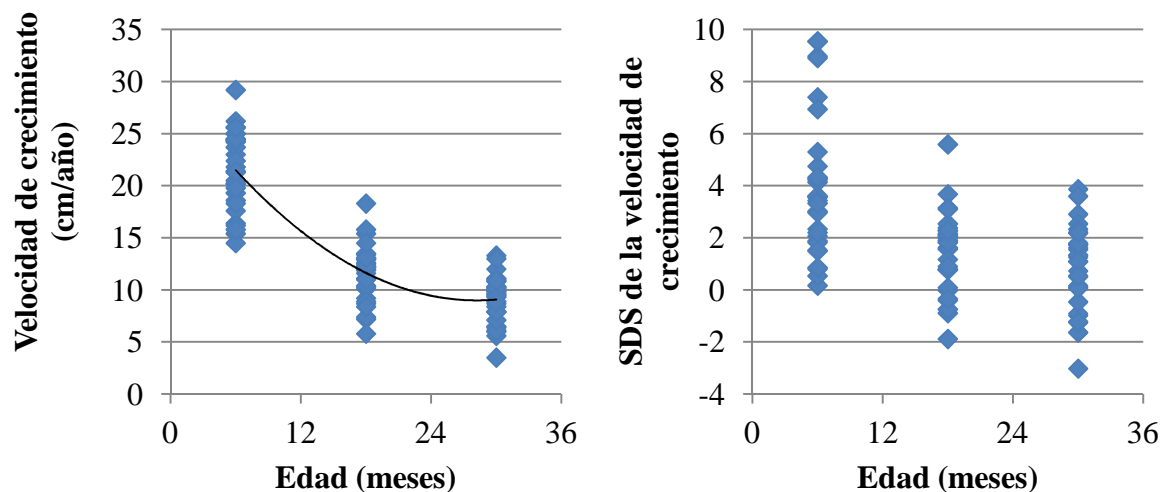


Figura 34. Representación de la velocidad de crecimiento (izquierda) y el Z-score de la velocidad de crecimiento en varones durante los 3 primeros años de vida.

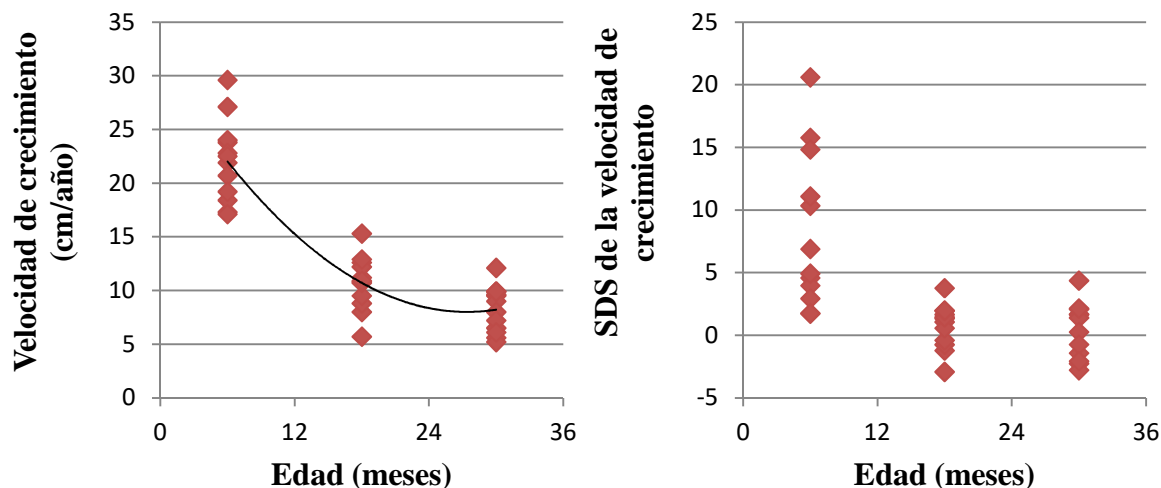


Figura 35. Representación de la velocidad de crecimiento y el Z-score de la velocidad de crecimiento en mujeres durante los 3 primeros años de vida.

4.2.1.f. Valoración del IMC

El Z-score del IMC ha sido:

- A los 12 meses de edad: $-0,59 \pm 1,13$
- A los 24 meses de edad: $0,00 \pm 1,09$
- A los 36 meses de edad: $0,64 \pm 1,32$

El Z-score del IMC se sitúa por debajo de la media poblacional al año de vida, en la media a los 2 años de vida y ligeramente por encima de la media a los 3 años de vida. Por tanto el IMC aumenta con la edad.

No se ha encontrado sobrepeso ($\text{IMC} > p90, 1,32\text{DE}$) ni obesidad ($\text{IMC} > p97, 2\text{DE}$) en nuestra muestra salvo en 4 pacientes varones (6,12%) que presentaron IMC a los 36 meses $> 2 \text{ DE}$ [$+2,9$ (paciente nº 14 con forma virilizante simple), $+2,95$ (paciente nº 30 con forma pérdida salina), $+3,15$ (paciente nº 33 con forma pérdida salina), $+4,3$ (paciente nº 18 con forma pérdida salina)] (véase figura 36). Las dosis de hidrocortisona medias a los 36 meses en estos pacientes fueron 9,09; 20,28; 14,08 y 14,28 $\text{mg/m}^2/\text{día}$ respectivamente. Estos 4 pacientes obesos no presentaron talla baja, su Z-score a los 36 meses fue $-1,43 \text{ DE}$, $-0,83 \text{ DE}$, $-0,13\text{DE}$ y $-0,21\text{DE}$ respectivamente.

A los 36 meses el Z-score del IMC es mayor en varones que en mujeres ($p = 0,014$), sin embargo no se han encontrado diferencias significativas según el sexo a los 12 ni 24 meses, ni en función de la forma clínica en ningún grupo etario (tabla 37).

	IMC (kg/m²)	12 meses	24 meses	36 meses
Sexo	Varones	16,97 ± 1,46	16,55 ± 1,28	16,86 ± 1,55
	Z-score IMC	-0,43 ± 1,11	0,16 ± 1,16	0,90 ± 1,42
	Mujeres	15,74 ± 1,16	15,64 ± 1,04	15,92 ± 0,93
	Z-score IMC	-1,02 ± 1,11	-0,40 ± 0,80	-0,04 ± 0,65
Forma clínica	PS	16,56 ± 1,39	16,32 ± 1,35	16,65 ± 1,48
	Z-score IMC	-0,70 ± 1,06	0,02 ± 1,16	0,67 ± 1,33
	VS	16,94 ± 1,89	16,20 ± 0,99	16,43 ± 1,44
	Z-score IMC	-0,12 ± 1,35	-0,08 ± 0,82	0,51 ± 1,34

Tabla 37. Evolución del IMC (kg/m²) según sexo y forma clínica.

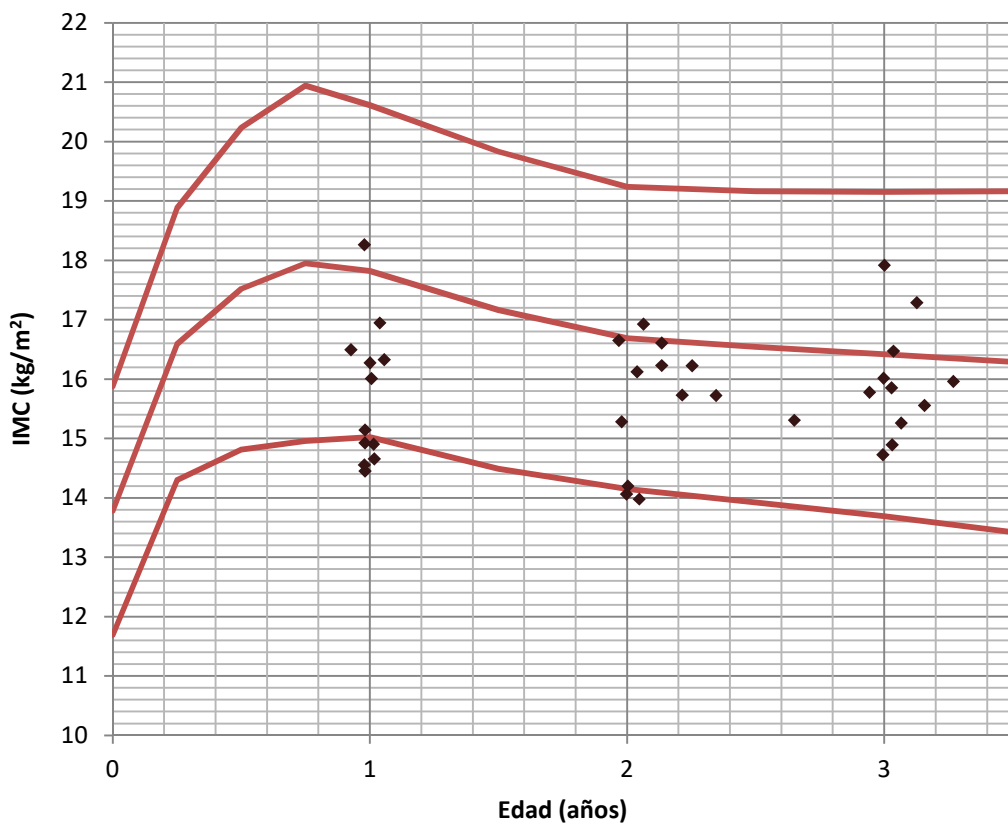
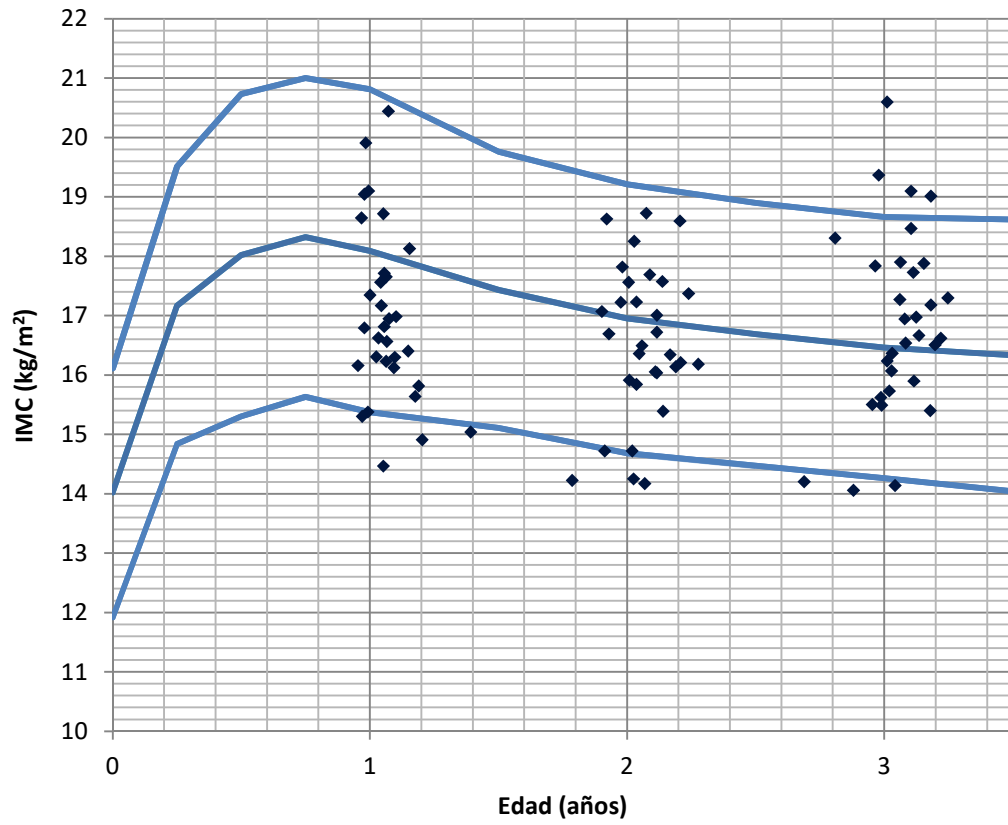


Figura 36. Representación del IMC en varones (azul) y en mujeres (rojo) durante los 3 primeros años.

4.2.1.g. Valoración de las dosis de tratamiento

i. Hidrocortisona

Las dosis medias de hidrocortisona utilizadas en los primeros 3 años de vida han sido:

- A los 3 meses: $23,17 \pm 8,77$ mg/m²/día (IC 95%: 20,56; 25,78)
- A los 6 meses: $18,83 \pm 6,14$ mg/m²/día (IC 95%: 16,97; 20,70)
- A los 12 meses: $18,11 \pm 5,00$ mg/m²/día (IC 95%: 16,57; 19,65)
- A los 24 meses: $16,48 \pm 4,17$ mg/m²/día (IC 95%: 15,20; 17,77)
- A los 36 meses: $15,66 \pm 3,45$ mg/m²/día (IC 95%: 14,60; 16,72)

En los pacientes con pérdida salina la dosis media de hidrocortisona empleada durante los 3 primeros años de vida ha sido (tabla 38):

- A los 3 meses: $24,15 \pm 7,85$ mg/m²/día (IC 95%: 21,57; 26,73)
- A los 6 meses: $19,35 \pm 4,96$ mg/m²/día (IC 95%: 17,67; 21,03)
- A los 12 meses: $18,62 \pm 4,41$ mg/m²/día (IC 95%: 17,10; 20,13)
- A los 24 meses: $17,23 \pm 3,61$ mg/m²/día (IC 95%: 15,96; 18,49)
- A los 36 meses: $16,39 \pm 2,78$ mg/m²/día (IC 95%: 15,42; 17,36)

En los pacientes con forma virilizante simple la dosis media de hidrocortisona empleada durante los 3 primeros años de vida ha sido (tabla 38):

- A los 3 meses: $18,52 \pm 11,79$ mg/m²/día (IC 95%: 8,66; 28,38)
- A los 6 meses: $16,53 \pm 10,03$ mg/m²/día (IC 95%: 8,13; 24,92)
- A los 12 meses: $15,88 \pm 6,97$ mg/m²/día (IC 95%: 10,04; 21,71)
- A los 24 meses: $13,69 \pm 5,13$ mg/m²/día (IC 95%: 9,74; 17,64)
- A los 36 meses: $12,90 \pm 4,43$ mg/m²/día (IC 95%: 9,49; 16,31)

Dosis (mg/m ² /día)	3 meses	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses
PS	24,15 ± 7,85 mín:16,21; máx:50,00	19,35 ± 4,96 mín:13,95; máx: 39,06	18,62 ± 4,41 mín:11,62; máx:33,78	17,23 ± 3,61 mín:7,69; máx:25,50	16,39 ± 2,78 mín:9,00; máx:20,89
VS	18,52 ± 11,79 mín:0,00 máx: 40,32	16,53 ± 10,03 mín:0,00 máx: 34,28	15,88 ± 6,97 mín: 9,30 máx: 30,48	13,69 ± 5,13 mín: 7,60 máx: 24,00	12,90 ± 4,43 mín:7,27 máx: 21,18
p	0,090	0,286	0,078	0,024	0,042

Tabla 38. Evolución de las dosis de hidrocortisona empleadas, comparativa entre forma pierde sal y virilizante simple.

Las dosis medias de hidrocortisona empleadas en los pacientes con forma virilizante simple son inferiores a las del grupo con pérdida salina, siendo esta diferencia estadísticamente significativa a los dos y tres años de edad (figura 37).

Durante el seguimiento, los pacientes recibieron dosis medias de hidrocortisona inferiores a 25 mg/m²/día, salvo excepciones (tabla 39). A los 3 meses, 12 pacientes tenían dosis por encima de 25 mg/m²/día de hidrocortisona (10 pérdida salina, 2 virilizante simple); a los 6 meses, 4 pacientes (3 pérdida salina, 1 virilizante simple); a los 12 meses, 3 pacientes (2 pérdida salina, 1 virilizante simple); a los 24 meses, 1 paciente con pérdida salina y a los 36 meses, todos los pacientes recibían dosis inferiores a 25 mg/m²/día de hidrocortisona.

Dosis hidrocortisona (mg/m ² /día)					
Número Paciente	Forma clínica	3 meses	6 meses	12 meses	24 meses
2	PS	44,44	28,57	-	-
3	PS	50,00	-	-	-
5	PS	25,80	-	-	25,50
6	PS	44,60	39,06	33,78	-
9	PS	34,48	-	-	-
10	VS	40,32	34,28	30,48	-
13	PS	33,33	27,70	-	-
17	PS	28,84	-	-	-
19	PS	25,80	-	-	-
20	PS	25,80	-	-	-
21	VS	26,78	-	-	-
24	PS	-	-	27,27	-
27	PS	25,86	-	-	-

Tabla 39. Descripción de los pacientes con dosis de mantenimiento de hidrocortisona superiores a 25mg/m²/día durante el seguimiento.

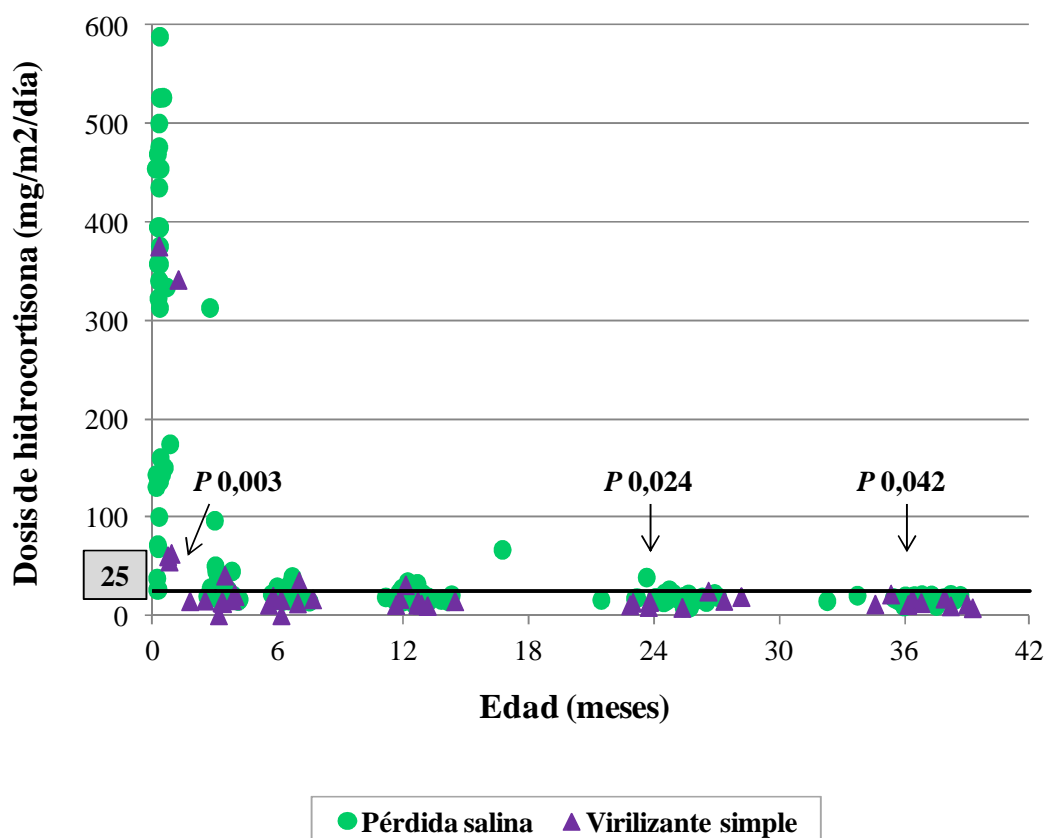


Figura 37. Representación de las dosis de hidrocortisona utilizadas en los tres primeros años de vida según forma clínica.

Las mujeres recibieron dosis de hidrocortisona medias mayores a las de los varones (tabla 40), siendo esta diferencia estadísticamente significativa a los 24 meses de edad ($p = 0,008$).

Dosis (mg/m ² /día)	3 meses	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses
Varones	24,08 ± 15,89	17,86 ± 5,73	19,40 ± 10,27	15,64 ± 4,27	15,40 ± 3,10
Mujeres	26,26 ± 8,03	21,75 ± 7,23	20,82 ± 6,47	20,24 ± 6,50	16,33 ± 4,31
p	0,077	0,149	0,192	0,008	0,277

Tabla 40. Evolución de las dosis de hidrocortisona (mg/m²/día) empleadas según sexo.

ii. 9α-fluorhidrocortisona

En los pacientes con pérdida salina el tratamiento con mineralcorticoides se inició en el momento del diagnóstico coincidiendo con el descenso de la dosis de hidrocortisona inicial. Se utilizó la dosis necesaria para conseguir niveles normales de sodio, ARP normal y tensión arterial normal. En los pacientes con forma virilizante simple, se inició el tratamiento por ARP mantenida en cifras elevadas a pesar de no presentar síntomas de pérdida salina ni hiponatremia.

Todos los pacientes con pérdida salina y 6 pacientes con forma virilizante simple fueron tratados con 9 α fluorhidrocortisona. El ajuste de la dosis se realiza mediante la determinación de la actividad de renina plasmática. Los pacientes con forma virilizante simple que precisaron 9 α fluorhidrocortisona fueron 3 pacientes desde el diagnóstico (n° 4,10 y 21), 1 paciente desde los 3 meses (n° 42), 1 paciente desde los 6 meses (n° 23) y 1 paciente desde los 24 meses (n° 11).

Las dosis de 9 α fluorhidrocortisona (mg/día) utilizadas durante los tres primeros años de vida (tabla 41), son diferentes en el grupo de pérdida salina y el de virilizantes simples, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$) en todos los grupos etarios, salvo al inicio del tratamiento ($p = 0,734$), como se representa en la figura 38. El grupo de pérdida salina precisa dosis de 9 α fluorhidrocortisona entre 0,075 y 0,1 mg/día sin embargo el de virilizante simple precisa en torno a 0,0125 mg/día.

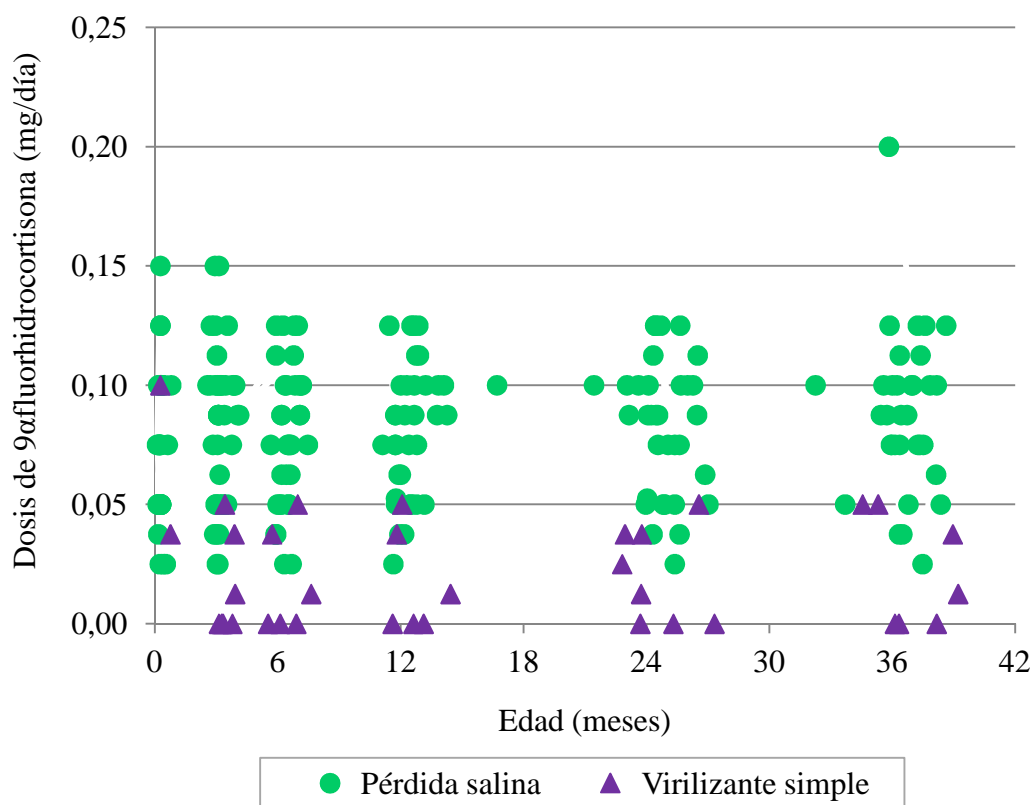


Figura 38. Representación de la dosis de 9 α fluorhidrocortisona utilizadas en los tres primeros años de vida según forma clínica.

Dosis (mg/día)	3 meses	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses
PS	0,08 ± 0,03	0,10 ± 0,13	0,08 ± 0,02	0,08 ± 0,02	0,08 ± 0,03
VS	0,01 ± 0,02	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,02
p	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Tabla 41. Evolución de las dosis de 9 α fluorhidrocortisona (mg/día) empleadas, comparativa entre forma pierde sal y virilizante simple.

Una paciente con forma pierde sal ha presentado hipertensión arterial en los tres primeros años de vida. Fue tratada con 0,05 mg/día de 9 α fluorhidrocortisona hasta los 12 meses y posteriormente se aumentó la dosis a 0,0875 mg/día junto con dosis de hidrocortisona que no superaron los 25 mg/m²/día (a los 6 meses 15,6 mg/m²/día, a los 12 meses 24,3 mg/m²/día, a los 24 meses 22 mg/m²/día y a los 36 meses 19,64 mg/m²/día). En el primer año de vida precisó tratamiento con nifedipino por hipertensión arterial transitoria durante 3 meses.

iii. Cloruro sódico

Las dosis de cloruro sódico orales empleadas en la forma pierde sal, descienden desde 4,10 mEq/kg/día al diagnóstico, a 2 mEq/kg/día a los 3 meses y a 1,4 mEq/kg/día a los 6 meses. A todos los pacientes se les retiraron los suplementos de sodio en el sexto mes de vida coincidiendo con la introducción de la alimentación complementaria.

4.2.1.h. Correlación de las dosis de glucocorticoides y mineralcorticoides con la talla

La dosis de hidrocortisona utilizada al diagnóstico de la enfermedad, repercute de forma negativa en el crecimiento a los 3 meses de edad ($R = -0,418$, $p = 0,004$). Es decir, cuanto mayor sea la dosis de hidrocortisona inicial, menor será la longitud a los 3 meses de vida. No se ha encontrado relación entre las dosis iniciales de hidrocortisona empleadas al diagnóstico y la talla a los 6, 12, 24 ni 36 meses (tabla 42 y figura 39).

La dosis a los 3 meses se correlaciona de forma inversa con la longitud a los 6 ($R = -0,584$, $p < 0,001$) y 12 meses ($R = -0,364$, $p = 0,018$) y las dosis empleadas a los 6 meses repercuten de manera indirecta en el Z-score de la talla a los 12 meses ($R = -0,413$, $p = 0,007$) (figura 40).

Correlación (R) Valor p		Z-score de la talla				
		3 meses	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses
Dosis de hidrocortisona (mg/m ² /día)	Iniciales	R = -0,418 p 0,004	R = -0,142 p = 0,363	R = -0,074 p = 0,647	R = 0,109 p = 0,503	R = 0,103 p = 0,529
	3 meses	-	R = -0,584 p < 0,001	R = -0,364 p = 0,018	R = -0,230 p = 0,147	R = -0,158 p = 0,323
	6 meses	-	-	R = -0,413 p = 0,007	R = -0,287 p = 0,069	R = -0,133 p = 0,408
	12 meses	-	-	R = -0,211 p = 0,175	R = -0,134 p = 0,397	R = -0,177 p = 0,262
	24 meses	-	-	-	R = 0,012 p = 0,938	R = 0,010 p = 0,950
	36 meses	-	-	-	R = 0,258 p = 0,099	R = 0,064 p = 0,683

Tabla 42. Correlación entre la dosis de hidrocortisona y el Z-score de la talla en los 3 primeros años de vida.

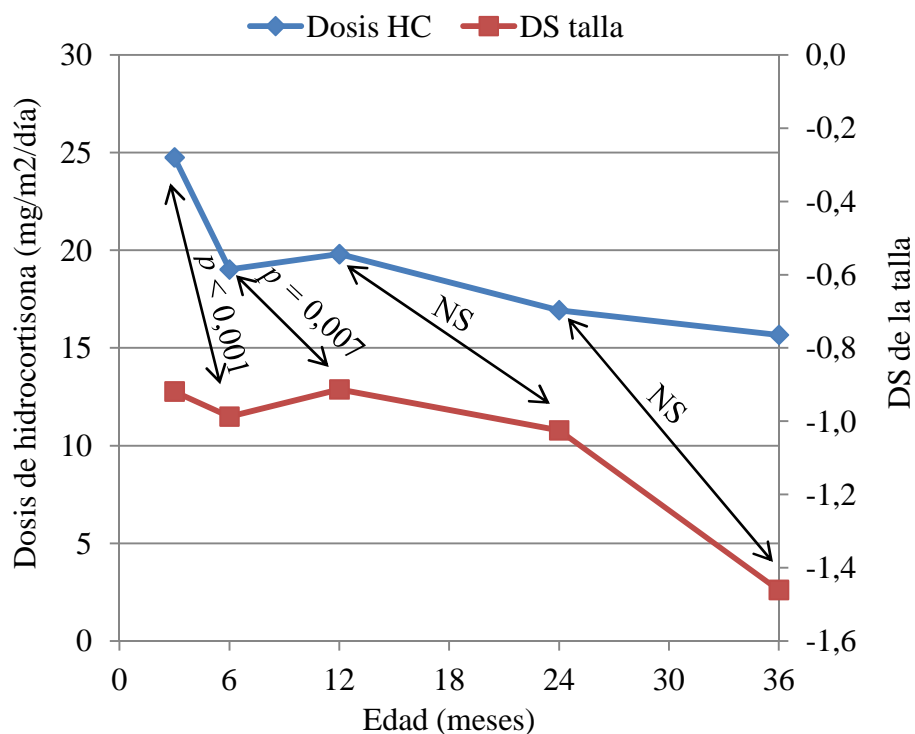


Figura 39. Correlación de dosis de hidrocortisona (HC) y DS de la talla durante los primeros 3 años de vida.

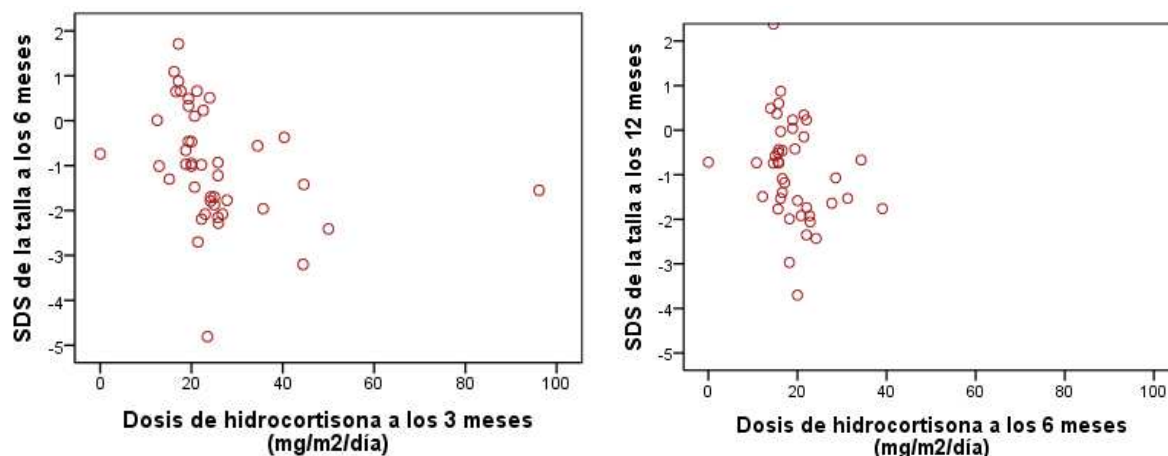


Figura 40. Representación de la correlación entre la dosis de hidrocortisona a los 3 meses y las DE de la talla a los 6 meses (izquierda) y entre la dosis de hidrocortisona a los 6 meses y las DE de la talla a los 12 meses (derecha).

La edad a la que se alcanzaron dosis de mantenimiento (20-25 mg/m²/día) de hidrocortisona, también se correlaciona negativamente con la talla a los 3 meses ($R = -0,426$) siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,004$). La talla a los 3 meses empeora cuanto más tarde se alcance la dosis de mantenimiento. A los 6 meses, también se ha encontrado una correlación negativa ($R = -0,308$) pero sin diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,047$).

No se han encontrado relaciones entre la edad de inicio de la hidrocortisona y el crecimiento en los 3 primeros años de vida (tabla 43).

No se han encontrado correlaciones entre la edad de inicio del mineralcorticoide, ni de la dosis de mineralcorticoide inicial y el crecimiento en los 3 primeros años (tabla 43).

Únicamente existe una correlación moderada positiva ($R = 0,362$) entre la edad de inicio del mineralcorticoide y la talla a los 36 meses de edad ($p = 0,042$) (tabla 43).

Correlación (R) Valor p	Z-score de la longitud				
	3 meses	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses
Edad inicio HC (ddv)	R = -0,051 p = 0,735	R = 0,010 p = 0,950	R = 0,160 p = 0,311	R = -0,036 p = 0,823	R = 0,255 p = 0,103
Edad inicio MC (ddv)	R = -0,206 p = 0,221	R = -0,245 p = 0,156	R = 0,004 p = 0,983	R = 0,002 p = 0,990	R = 0,362 p = 0,042
Dosis iniciales de MC (mg/día)	R = 0,162 p = 0,326	R = 0,302 p = 0,069	R = 0,318 p = 0,062	R = 0,229 p = 0,193	R = 0,301 p = 0,084

Tabla 43. Correlaciones entre edad de inicio (días de vida) del tratamiento con hidrocortisona (HC) y mineralcorticoide (MC) y dosis de mineralcorticoide y Z-score de la longitud en los primeros 3 años de vida.

La velocidad de crecimiento entre los 12 y 24 meses y entre los 24 y 36 meses de edad, no se correlaciona con las dosis de hidrocortisona ni de fludrocortisona utilizadas (tabla 44).

Dosis		Z- score de la velocidad de crecimiento	
		Entre 12 y 24 meses	Entre 24 y 36 meses
Hidrocortisona	12 meses	R = 0,007 p = 0,963	R = -0,044 p = 0,783
	24 meses	R = -0,259 p = 0,098	R = -0,078 p = 0,623
	36 meses	R = -0,033 p = 0,837	R = -0,121 p = 0,441
Fludrocortisona	12 meses	R = 0,212 p = 0,183	R = -0,189 p = 0,229
	24 meses	R = 0,203 p = 0,209	R = -0,200 p = 0,217
	36 meses	R = 0,193 p = 0,233	R = -0,135 p = 0,401

Tabla 44. Correlación entre la dosis de hidrocortisona y fludrocortisona y el Z-score de la velocidad de crecimiento en los 3 primeros años de vida.

4.2.1.i. Valoración de los valores analíticos

i. Valores de 17-OHP

El valor medio de 17-OHP en la forma virilizante simple es superior al encontrado en la forma pierde sal durante los 3 primeros años de vida (tabla 45 y figura 41).

17-OHP (ng/ml)	Al diagnóstico	3 meses	6 meses	1 año	2 años	3 años
PS	311,00	1,80	0,60	0,80	0,13	0,10
VS	234,00	20,00	25,00	23,55	20,00	32,50
p	0,546	0,021	0,006	0,001	0,002	<0,001

Tabla 45. Valores medianos de 17-OHP (ng/ml) durante el seguimiento.

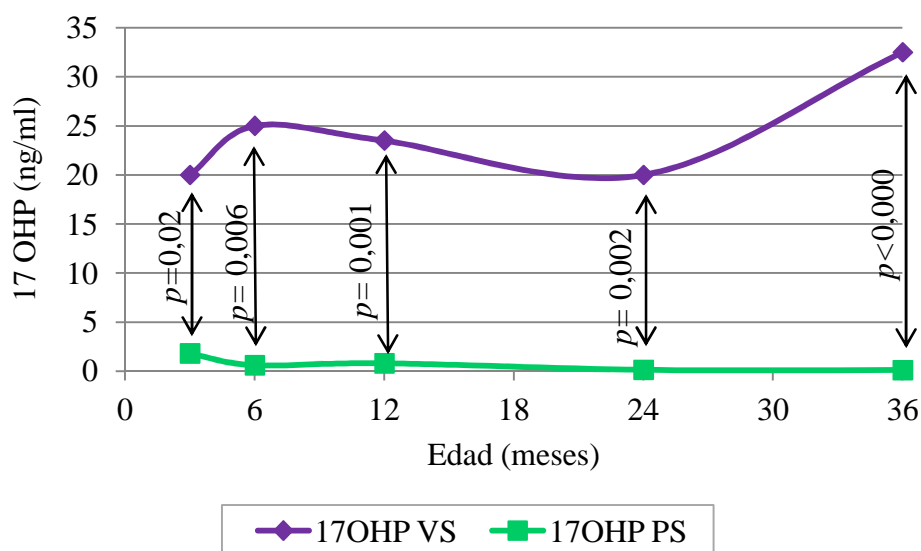


Figura 41. Representación comparativa de la 17-OHP entre el grupo pierde sal y virilizante simple.

Al correlacionar los valores medios de 17-OHP y las dosis de hidrocortisona empleadas durante los primeros 3 años de vida (tabla 46), se encuentra una correlación indirecta entre las dosis de hidrocortisona a los 3 meses y el valor de 17-OHP a los 3 meses ($R = -0,360$; $p = 0,019$), entre las dosis de hidrocortisona a los 12 meses y el valor de 17-OHP a los 12 meses ($R = -0,337$; $p = 0,034$), a los 24 meses ($R = -0,465$; $p = 0,003$) y a los 36 meses ($R = -0,374$; $p = 0,017$). Entre la dosis de hidrocortisona a los 24 meses y el valor de 17-OHP a los 24 meses ($R = -0,342$; $p = 0,031$) y a los 36 meses ($R = -0,428$; $p = 0,006$). Entre la dosis de hidrocortisona a los 36 meses y el valor de 17-OHP a los 36 meses ($R = -0,508$; $p = 0,001$).

Esta correlación inversa entre dosis de hidrocortisona y nivel de 17-OHP explicaría que los niveles de 17-OHP en pacientes afectados de forma virilizante simple sean mayores que

los de los pacientes con forma pierde sal, ya que el primer grupo requiere dosis menores de hidrocortisona que el segundo (figura 42).

Correlación (R) Valor p		17-OHP				
		3 meses	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses
Dosis de hidrocortisona	3 meses	R = -0,360 p = 0,019	R = -0,327 p = 0,055	R = -0,279 p = 0,081	R = -0,241 p = 0,144	R = -0,143 p = 0,386
	6 meses	-	R = -0,156 p = 0,370	R = -0,105 p = 0,521	R = -0,145 p = 0,386	R = -0,011 p = 0,949
	12 meses	-	-	R = -0,337 p = 0,034	R = -0,465 p = 0,003	R = -0,374 p = 0,017
	24 meses	-	-	-	R = -0,342 p = 0,031	R = -0,428 p = 0,006
	36 meses	-	-	-	-	R = -0,508 p = 0,001

Tabla 46. Correlación entre la dosis de hidrocortisona y el valor plasmático de 17-OHP.

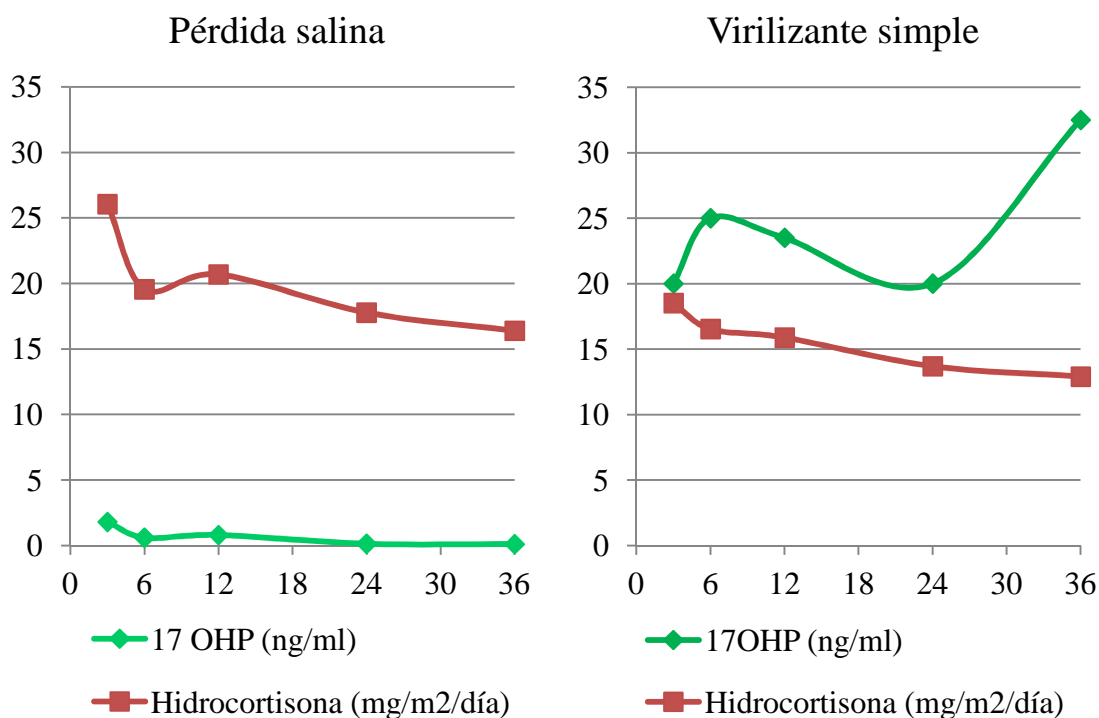


Figura 42. Representación de las dosis de hidrocortisona (mg/m2/día) y los valores de 17-OHP (ng/ml) obtenidos durante el seguimiento en el grupo de pérdida salina y en el virilizante simple.

ii. Valores de testosterona, DHEAS, androstendiona.

Los valores de testosterona, DHEAS y androstendiona no difieren entre las dos formas clínicas de la enfermedad (tabla 47, 48 y 49).

Existe una correlación inversa entre la dosis de hidrocortisona empleada a los 36 meses y el valor de testosterona obtenido a los 36 meses ($R = -0,349$, $p = 0,029$).

Testosterona (ng/ml)	Al diagnóstico	3 meses	6 meses	1 año	2 años	3 años
PS	2,00	0,55	0,10	0,10	0,10	0,10
VS	1,06	0,60	0,15	0,15	0,10	0,10
p	0,700	0,820	0,870	0,398	0,457	0,328

Tabla 47. Valores medianos de testosterona (ng/ml) durante el seguimiento.

Existe una correlación indirecta entre la dosis de hidrocortisona y los valores de DHEAS obtenidos a los 24 meses ($R = -0,477$, $p = 0,014$) y a los 36 meses ($R = -0,408$, $p = 0,034$).

DHEAS (µg/dl)	Al diagnóstico	3 meses	6 meses	1 año	2 años	3 años
PS	82,80	-	15,00	15,00	15,00	15,00
VS	-	-	15,00	15,00	15,00	30,00
p	-	-	0,909	0,559	0,196	0,086

Tabla 48. Valores medianos de DHEAS (µg/dl) durante el seguimiento.

El valor mediano de androstendiona a los 12 meses se correlaciona inversamente con la dosis de hidrocortisona administrada a los 3 y 6 meses de edad ($R = -0,669$, $p = 0,012$ y $R = -0,635$, $p = 0,020$, respectivamente). Esta correlación inversa se hace más fuerte a los 24 meses de edad respecto a las dosis utilizadas a los 6 meses ($R = -0,774$, $p = 0,001$). A los 24 y 36 meses, esta asociación inversa se mantiene aunque es más débil y no alcanza potencia estadística ($R = -0,313$, $p = 0,206$ y $R = -0,344$, $p = 0,108$).

Androstendiona (µg/dl)	1 año	2 años	3 años
PS	0,10	-	0,10
VS	1,80	0,60	0,80
p	0,410	0,076	0,097

Tabla 49. Valores medianos de androstendiona (µg/dl) durante el seguimiento.

iii. Valores de ARP y aldosterona

La ARP obtenidos difiere entre las dos formas clínicas (tabla 50). Se han obtenido cifras más elevadas de ARP en la forma virilizante simple, siendo esta diferencia estadísticamente significativa a los 3 meses, 12 meses, 24 meses y 36 meses de edad (figura 43).

ARP (µg/L/h)	3 meses	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses
PS	0,5	0,2	0,2	0,2	0,2
VS	16,0	30,6	24,6	6,5	10,6
p	0,031	0,078	0,018	0,027	0,001

Tabla 50. Niveles de ARP (µg/L/h) durante el seguimiento según forma clínica.

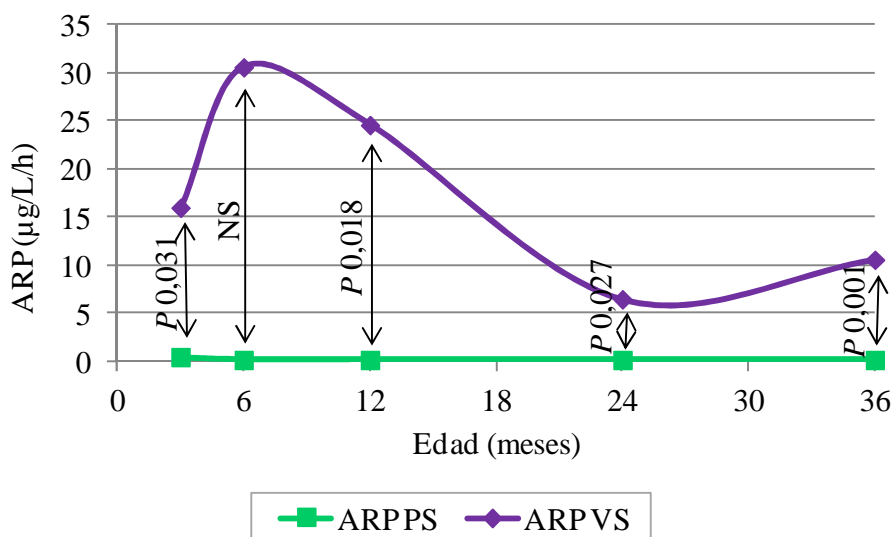


Figura 43. Representación comparativa de la ARP entre el grupo pierde sal y virilizante simple.

Aldosterona (ng/L)	3 meses	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses
PS	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0
VS	-	559,5	325,0	292,0	139,0
p	-	0,059	0,404	0,001	0,002

Tabla 51. Niveles de aldosterona (ng/L) durante el seguimiento según forma clínica.

En cuanto a los valores de aldosterona (tabla 51), se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en los valores obtenidos a los 24 meses y 36 meses entre ambas formas clínicas ($p = 0,001$ y $p = 0,002$, respectivamente).

Al analizar la correlación entre la dosis de mineralocorticoide y los valores de ARP y aldosterona durante el seguimiento se ha encontrado una correlación inversa, a mayor dosis de 9αfluorhidrocortisona se obtienen menores valores de ARP y aldosterona (tabla 52).

Correlación (R) Valor p		Hormonas	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses
Dosis de 9αflurohidrocortisona	3 meses	Aldosterona	R= -0,48 p= 0,019	R=-0,709 p < 0,001	-	-
		ARP	R=-0,60 p= 0,003	-	-	R =-0,593 p < 0,001
	6 meses	Aldosterona	R=-0,983 p < 0,001	R=-0,456 p= 0,033	R=-0,713 p < 0,001	R=-0,533 p= 0,007
		ARP	-	R=-0,397 p= 0,030	-	R=-0,593 p < 0,001
	12 meses	Aldosterona	-	R=-0,478 p= 0,024	R=-0,737 p < 0,001	R=-0,554 p 0,004
		ARP	-	R=-0,431 p= 0,017	-	R=-0,604 p < 0,001
	24 meses	Aldosterona	-	-	R=-0,686 p < 0,001	R=-0,512 p= 0,013
		ARP	-	-	-	R=-0,529 p= 0,002
	36 meses	Aldosterona	-	-	-	R=-0,523 p= 0,007
		ARP	-	-	-	R=-0,543 p= 0,001

Tabla 52. Correlación entre la dosis de mineralcorticoide y los valores de aldosterona y ARP obtenidos durante el seguimiento.

4.2.1.j. Valoración de la maduración ósea

La edad ósea a los 2 años y 3 años es inferior a la edad cronológica tanto en los varones como en las mujeres si no se tiene en cuenta la forma clínica de la enfermedad (EO/EC <1).

A los dos años, el ratio EO/EC en la forma virilizante simple es mayor que el de la forma pierde sal (1,01 y 0,83, respectivamente), es decir en los pacientes con forma virilizante simple, la edad ósea está adelantada respecto a la edad cronológica. A los 3 años, el ratio EO/EC en la forma virilizante simple decrece y no se encuentran diferencias entre ambas formas clínicas (tabla 53 y figura 44).

EO/EC	Sexo		Forma clínica	
	Varones	Mujeres	PS	VS
2 años	0,86±0,22	0,89±0,14	0,83±0,20	1,01±0,17
	p = 0,661		p = 0,050	
3 años	0,85±0,19	0,80±0,14	0,81±0,17	0,95±0,20
	p = 0,497		p = 0,073	

Tabla 53. Evolución de la edad ósea durante el seguimiento.

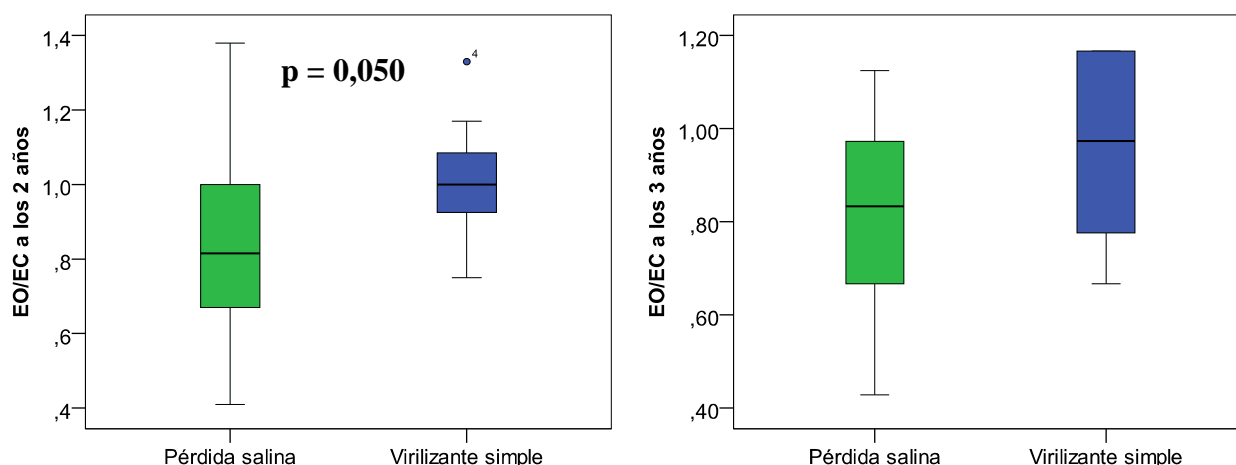


Figura 44. Representación gráfica de la relación entre edad ósea y edad cronológica a los 24 y 36 meses de edad entre los dos grupos de formas clínicas.

No se ha encontrado correlación entre la maduración ósea y el crecimiento en los tres primeros años de vida (tabla 54).

Ratio EO/EC	Z-score de la talla		
	12 meses	24 meses	36 meses
2 años	R = 0,234 p = 0,163	R = 0,250 p = 0,136	R = 0,186 p = 0,262
3 años	R = 0,225 p = 0,187	R = -0,097 p = 0,573	R = 0,064 p = 0,707

Tabla 54. Correlación entre maduración ósea y Z-score de la talla en los 3 primeros años de vida.

Tampoco entre las dosis de hidrocortisona ni de mineralcorticoide empleadas en los 3 primeros años de vida y la maduración ósea a los 2 y 3 años (tabla 55 y 56).

Ratio EO/EC	Dosis de hidrocortisona				
	3 meses	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses
2 años	R = -0,199 p = 0,245	R = -0,184 p = 0,284	R = -0,114 p = 0,501	R = -0,061 p = 0,722	R = 0,043 p = 0,798
3 años	R = -0,242 p = 0,161	R = -0,138 p = 0,429	R = 0,070 p = 0,686	R = -0,095 p = 0,582	R = -0,011 p = 0,948

Tabla 55. Correlación entre la maduración ósea y la dosis de hidrocortisona

Ratio EO/EC	Dosis de mineralcorticoide				
	3 meses	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses
2 años	R = -0,324 p = 0,050	R = -0,261 p = 0,124	R = -0,214 p = 0,203	R = -0,213 p = 0,219	R = -0,197 p = 0,249
3 años	R = 0,116 p = 0,501	R = -0,055 p = 0,754	R = -0,049 p = 0,774	R = -0,041 p = 0,816	R = 0,076 p = 0,664

Tabla 56. Correlación entre la maduración ósea y la dosis de mineralcorticoides.

4.2.1.k. Patología renal asociada

Se ha analizado la frecuencia de pacientes con formas clásicas de HSC que tiene algún tipo de patología renal asociada a los 3 años de edad. El 16,32% de los pacientes (n=8) asocian algún tipo de patología renal, todos los que presentaron patología renal pertenecen al grupo de pérdida salina (4 varones y 4 mujeres).

La patología renal más frecuentemente asociada son las infecciones de orina (8,16% n=4; 1 varón y 3 mujeres) y la hipercalciuria idiopática (8,16%, n=4; 3 varones y 1 mujer).

Se encontró hipertensión arterial en dos mujeres con pérdida salina. Una de ellas, durante la etapa neonatal por recibir dosis altas de hidrocortisona IV y otra durante la etapa de lactante. En ambos casos, la HTA fue tratada con antihipertensivos (en el primer caso hidralazina y en el segundo nifedipino) durante períodos cortos de tiempo (en el primer caso 15 días y en el segundo durante 3 meses), con resolución de la hipertensión de forma satisfactoria.

La hipercalciuria asintomática presentada por los pacientes de nuestra muestra se resolvió con medidas dietéticas protectoras (evitar exceso de calcio) e incremento de la actividad física. Ningún paciente presentó litiasis renal ni precisó tratamiento farmacológico (citrato potásico).

4.2.1.l. Número de consultas requeridas

El número de veces que se atendió a los pacientes en consulta durante los tres primeros años de vida se recoge en la tabla 57.

Estas consultas obedecen a 2 motivos: actuación según protocolo de seguimiento clínico y consultas demandadas por la familia.

Los pacientes con forma pierde sal han sido atendidos en consultas 19 veces al año durante el primer año de vida y los pacientes con forma virilizante simple 14 veces al año. Durante el segundo año de vida, los pacientes con pérdida salina son valorados 5 veces al año

y los virilizante simple 4. En el tercer año, ambos grupos de pacientes asisten a 4 consultas al año.

Durante el primer y segundo año, el número de consultas requeridas en el grupo pierde sal es mayor al precisado en el virilizante simple, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$ y $p = 0,002$, respectivamente).

	Primer año de vida	Segundo año de vida	Tercer año de vida
PS	19 (17- 28)	5 (4- 6,25)	4 (3- 4)
VS	14 (10,25- 15)	4 (3,50- 4)	4 (3- 4)
p	<0,001	0,002	0,772

Tabla 57. Número de consultas requeridas durante los tres primeros años de vida en función de la forma clínica.

4.2.1.m. Número de descompensaciones

En la tabla 58 se detalla la frecuencia de pacientes que presentaron descompensaciones en los 3 primeros años de vida. Estas descompensaciones se clasificaron como pacientes que solo requirieron atención en hospital de día con administración de hidrocortisona IV/IM (Actocortina®) y pacientes que precisaron ingreso hospitalario.

En el Hospital de Día de Endocrinología Infantil precisaron atención el 22,7% de los pacientes en una ocasión, el 18,2% de los pacientes en 2 ocasiones, el 6,8% de los pacientes en 3 ocasiones y el 2,3% de los pacientes en 4 ocasiones. El 50% de los pacientes estudiados no requirieron atención en el Hospital de Día.

Nº descompensaciones	Nº pacientes que precisó ingreso hospitalario	Nº pacientes que fue atendido en hospital de día por descompensaciones
0	18 (41,9%)	22 (50%)
1	14 (32,6%)	10 (22,7%)
2	5 (11,6%)	8 (18,2%)
3	5 (11,6%)	3 (6,8%)
4	-	1 (2,3%)
5	-	-
6	1 (2,3%)	-

Tabla 58. Frecuencia de pacientes que precisaron ingreso hospitalario o atención en hospital de día durante los tres primeros años de vida.

El 32% de los pacientes requirieron un ingreso por descompensación en los 3 primeros años de vida, el 11,6% precisaron 2 ingresos, el 11,6% 3 ingresos y el 2,3%

precisaron 6 ingresos. El 41,9% de los pacientes no tuvieron que ingresar por descompensación en los 3 primeros años de vida.

La causa más frecuente de ingreso fueron las infecciones (84%) generalmente viriasis, seguidas por la patología gastrointestinal (16%).

4.2.2. Tratamiento quirúrgico en niñas

De las 14 mujeres incluidas en el estudio, 12 presentaron algún grado de virilización de los genitales externos. Dos de ellas presentaron genitales externos normales por haber recibido tratamiento prenatal con dexametasona.

La cirugía precoz se realiza en un solo tiempo hacia los 12-18 meses de edad (figura 45). En el día previo a la cirugía se realiza la preparación intestinal con solución evacuante.

La edad media para la primera reconstrucción quirúrgica de los genitales fue a los 337 días (249-555) en el global de la muestra. En el grupo de pérdida salina, la edad media fue 292,5 días (9,61 meses) y en el virilizante simple 491 días (16,1 meses), sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre ambos ($p = 0,194$).

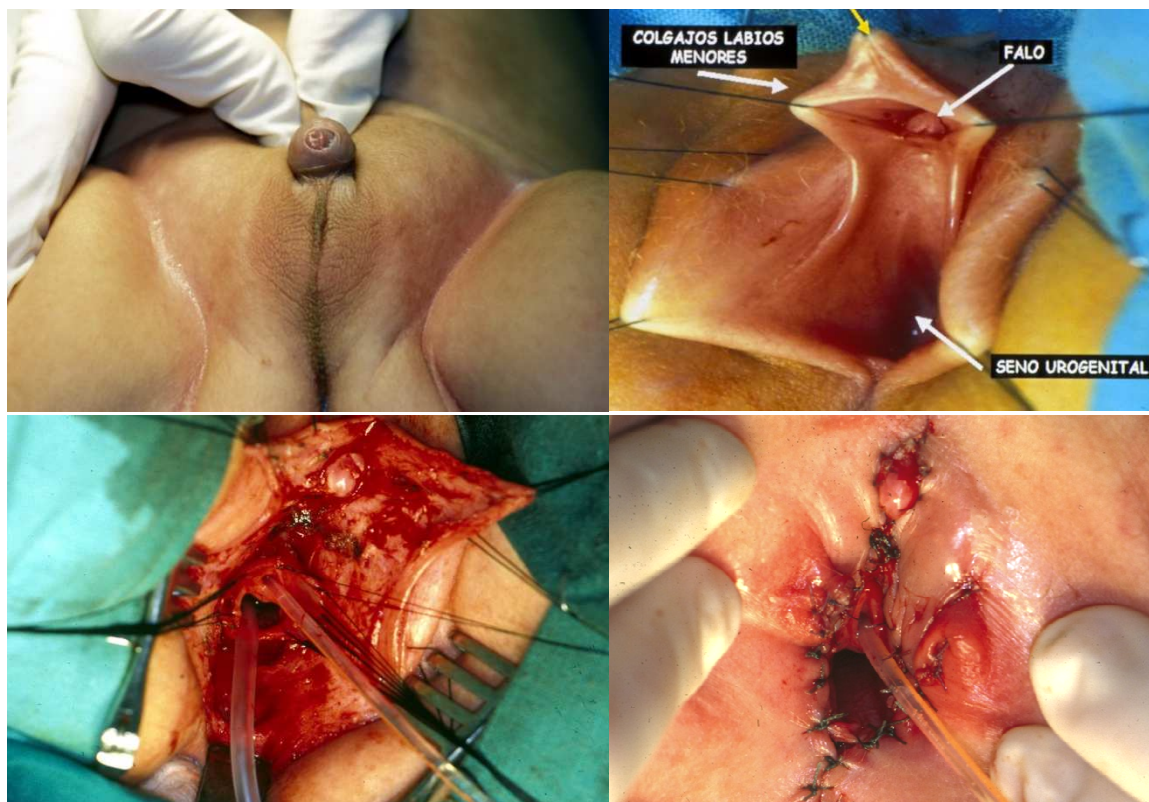


Figura 45. Reconstrucción del clítoris y perineal en mujer con genitales virilizados.

El 57,14% de las mujeres (n= 8) sólo precisó una intervención quirúrgica. El 14,28% de las mujeres (n= 2) precisaron 2 intervenciones, el 7,15% (n=1) precisó 3 intervenciones y 7,15% (n=1) precisó 4 intervenciones (figura 46).

Las pacientes numero 9 y 42 precisaron dos intervenciones quirúrgicas, en el primer caso la segunda intervención fue para reducción del clítoris y en el segundo caso, la segunda intervención consistió en una plastia del labio menor izquierdo.

La paciente 7 precisó 3 intervenciones quirúrgicas. Fue la primera paciente en la que se realizó la cirugía según técnica de Peña. Precisó realización de colostomía, posteriormente se llevó a cabo la reconstrucción quirúrgica y en un tercer tiempo el cierre de la colostomía.

La paciente número 20 con genitales grado Prader V (vagina desembocaba en cuello vesical), necesitó 4 intervenciones. La reconstrucción consistió en la realización de neovagina con interposición de intestino grueso.

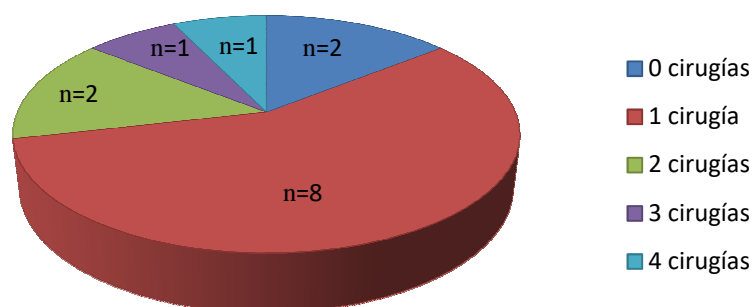


Figura 46. Frecuencia de intervenciones que fueron necesarias para la corrección quirúrgica de los genitales virilizados

Tras la reconstrucción quirúrgica a las niñas no se les exploran los genitales de forma rutinaria durante su seguimiento en consulta, salvo cuando alcanzan la pubertad para valorar el estadio de Tanner. A criterio del cirujano se realiza una exploración física con sedación para evaluar los resultados definitivos de la reconstrucción quirúrgica a una edad variable. Esta pauta pretende disminuir al máximo posible la repercusión psicológica que reiteradas exploraciones pueden producir en las niñas.

4.2.3. Valoración durante la pubertad

De la muestra analizada, 18 pacientes habían alcanzado la pubertad (10 pérdida salina y 8 virilizante simple).

4.2.3.a. Edad inicio puberal

La edad media de inicio puberal (inicio de botón mamario en mujeres y volumen testicular 4 ml de Prader en varones) en las mujeres fue a los 10,05 años y en los varones a los 12,18 años.

En la tabla 59 se detallan los datos relativos al inicio de la pubertad, pubarquia y axilarquia en función de la forma clínica y el sexo. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los grupos.

Edad de inicio (años)	Varones		Mujeres	
	PS (n= 7)	VS (n= 7)	PS (n=3)	VS (n=1)
Pubertad	12,81	11,55	10,73	8,01
Pubarquia	10,77	10,34	11,47	6,00
Axilarquia	11,79	11,93	12,58	10,25
Menarquia	-	-	14,05	10,3

Tabla 59. Edad de inicio de la pubertad, pubarquia, axilarquia y menarquia en función de la forma clínica y el sexo.

4.2.3.b. Antropometría durante la pubertad

i. Peso

El Z-score del peso al inicio de la pubertad es $1,24 \pm 2,29$ (IC 95%: 0,06; 2,42), se sitúa por encima de la media poblacional.

El Z-score del peso durante la pubertad no difiere entre hombres y mujeres ($p = 0,163$) aunque los varones presenta un Z-score por encima de la media poblacional ($1,59 \pm 2,48$) y las mujeres próximo a la media poblacional ($0,11 \pm 0,98$). Tampoco difiere significativamente entre la forma pierde sal y la virilizante simple ($p = 0,815$).

ii. Talla

El Z-score de la talla obtenido es $0,28 \pm 1,24$ (IC 95%: -0,35; 0,92), es decir los pacientes crecen acorde a la media poblacional e incluso por encima de ésta.

El Z-score de la talla en los varones es discretamente superior al de las mujeres (0,35 en varones y 0,05 en mujeres).

El Z-score de la talla no difiere en función de la forma clínica (-0,09 en pérdida salina y 0,71 en virilizante simple).

El estirón puberal (ganancia de talla desde el inicio puberal hasta alcanzar la talla adulta) fue $16,16 \pm 5,03$ cm en los varones y $14,26 \pm 7,96$ cm en las mujeres ($p = 1,000$).

Considerando la forma clínica, en los pacientes con pérdida salina fue $15,30 \pm 7,16$ cm y con virilizante simple $16,08 \pm 3,96$ cm ($p = 0,699$).

iii. IMC

El Z-score del IMC en el total de la muestra al inicio de la pubertad es $0,83 \pm 1,94$ (IC 95%: $-0,20; 1,86$).

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en el IMC al inicio de la pubertad en relación al sexo ni a la forma clínica.

En las tablas 60 y 61 se detallan los datos relativos al peso, talla e IMC al inicio de la pubertad en función de sexo y de la forma clínica.

	Varones	Mujeres	p
Peso (kg)	$50,85 \pm 12,02$	$34,22 \pm 9,29$	0,025
Z- score del peso	$1,59 \pm 2,48$	$0,11 \pm 0,98$	0,163
Talla (cm)	$149,71 \pm 7,36$	$137,42 \pm 5,76$	0,008
Z- score de la talla	$0,35 \pm 1,35$	$0,05 \pm 0,91$	0,785
IMC (kg/m²)	$22,13 \pm 4,29$	$17,97 \pm 3,92$	0,060
Z- score del IMC	$1,14 \pm 2,05$	$-0,11 \pm 1,34$	0,170

Tabla 60. Evolución del peso, talla e IMC, comparativa entre el grupo de varones y mujeres al inicio de la pubertad.

	PS	VS	p
Peso (kg)	$47,97 \pm 13,04$	$46,15 \pm 14,40$	0,696
Z- score del peso	$0,74 \pm 1,13$	$1,80 \pm 3,13$	0,815
Talla (cm)	$147,72 \pm 8,80$	$146,06 \pm 8,98$	0,633
Z- score de la talla	$-0,09 \pm 0,86$	$0,71 \pm 1,51$	0,370
IMC (kg/m²)	$20,93 \pm 3,05$	$21,40 \pm 5,91$	0,888
Z- score del IMC	$0,52 \pm 1,00$	$1,14 \pm 2,62$	0,959

Tabla 61. Evolución del peso, talla e IMC, comparativa entre el grupo de pérdida salina y el de virilizante simple al inicio de la pubertad.

4.2.3.c. Tratamiento durante la pubertad

La dosis media de hidrocortisona empleada al inicio de la pubertad ha sido $17,12$ mg/m²/día. Estas dosis no difieren entre hombres ($16,94$ mg/m²/día) y mujeres ($17,74$ mg/m²/día) ni entre forma pierde sal ($18,12$ mg/m²/día) y virilizante simple ($15,88$ mg/m²/día).

La dosis media de fludrocortisona empleada al inicio de la pubertad ha sido $0,06$ mg/día. En el grupo pierde sal las dosis de mineralcorticoides requeridas fueron mayores que

en la forma virilizante simple (0,07 y 0,03 mg/día, respectivamente), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,013$), tal y como se aprecia en la tabla 62.

		Hidrocortisona (mg/m ² /día)	p	Fludrocortisona (mg/día)	p
Global		17,12 ± 3,92		0,06 ± 0,03	
Sexo	Varones	16,94 ± 4,33	0,721	0,05 ± 0,03	0,851
	Mujeres	17,74 ± 2,25		0,06 ± 0,01	
Forma clínica	PS	18,12 ± 3,66	0,315	0,07 ± 0,03	0,013
	VS	15,88 ± 4,10		0,03 ± 0,00	

Tabla 62. Dosis medias de hidrocortisona y fludrocortisona empleadas durante la pubertad

i. Pubertad precoz

Se objetivaron signos de pubertad precoz en 5 pacientes varones (3 virilizante simple y 2 pierde sal)

- Paciente 1 (varón con forma pérdida salina): inicio puberal a los 7,6 años de edad. Fue tratado con análogos de GnRH y la talla adulta alcanzada fue -6,72 cm inferior a su talla genética. El ratio EO/EC en la pubertad fue 1,21.
- Paciente 3 (varón con forma pérdida salina): inicio puberal a los 6,9 años de edad. Fue tratado con análogos de GnRH y la talla adulta alcanzada fue -5,72 cm inferior a su talla genética.
- Paciente 11 (varón con forma virilizante simple): inicio puberal a los 8,8 años de edad. Fue tratado con análogos de GnRH y la talla adulta alcanzada fue -8,50 cm inferior a su talla genética. El ratio EO/EC en la pubertad fue 1,11.
- Paciente 14 (varón con forma virilizante simple): inicio puberal a los 5,1 años de edad. Fue tratado con análogos de GnRH y la talla adulta alcanzada fue -17 cm inferior a su talla genética. El ratio EO/EC en la pubertad fue 1,53.
- Paciente 25 (varón con forma virilizante simple): inicio puberal a los 7,0 años de edad. Fue tratado con análogos de GnRH y el pronóstico de talla adulta está 9,55 cm por encima de su talla genética. El ratio EO/EC en la pubertad fue 1,11.

ii. Correlación entre las dosis de hidrocortisona y fludrocortisona con la antropometría en la pubertad.

Al correlacionar la ganancia de talla en la pubertad con las dosis de hidrocortisona empleadas al año ($R = 0,156$), dos años ($R = 0,398$) y tres años de vida ($R = 0,444$) no hemos encontrado asociación significativa. Tampoco al correlacionar dichas dosis con el Z-score puberal ($R = -0,197$, $-0,121$ y $-0,018$, respectivamente).

Las dosis de hidrocortisona empleadas en los primeros 2 años de vida tampoco se correlacionan con el IMC al inicio puberal ($R = -0,145$ al año, $R = -0,456$ a los 2 años), pero sí hemos encontrado una asociación moderada ($R = -0,549$) entre la dosis de hidrocortisona utilizada a los 3 años y el IMC al inicio puberal ($p = 0,034$). A mayor dosis de hidrocortisona, menor IMC en la pubertad.

No se ha encontrado correlación entre las dosis de fludrocortisona empleadas en los primeros 3 años de vida y la ganancia de talla en la pubertad ($R = 0,532$, $R = 0,484$, $R = 0,222$) ni con el Z-score de la talla en la pubertad ($R = -0,307$, $R = -0,351$, $R = -0,289$). Tampoco se correlacionan estas dosis con el IMC alcanzado en la pubertad ($R = -0,170$, $R = -0,219$, $R = 0,066$).

Las dosis de hidrocortisona y de fludrocortisona empleadas en la pubertad tampoco se asocian con la magnitud del estirón puberal ($R = -0,130$ y $R = 0,314$, respectivamente), con el Z-score de la talla en la pubertad ($R = 0,142$ y $R = -0,400$, respectivamente) ni con el IMC puberal ($R = -0,237$ y $R = -0,191$, respectivamente).

4.2.3.d. Variables analíticas durante la pubertad

Los valores en la pubertad de andrógenos suprarrenales (17-OHP, androstendiona, DHEAS y testosterona) se detallan en la tabla 63. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de enfermedad en ninguno de los esteroides analizados durante la pubertad.

	PS Mediana (p25-p75)	VS Mediana (p25-p75)	P
17-OHP (ng/ml)	0,36 (0,10-35,17)	9,60 (1,00-229,00)	0,109
Androstendiona (µg/dl)	0,10 (0,10-0,10)	0,10 (0,10-0,10)	0,667
DHEAS (µg/dl)	15 (15- 18,75)	15 (15-58,72)	0,635
Testosterona (ng/ml)	0,60 (0,20-1,55)	1,45 (0,17-2,42)	0,776

Tabla 63. Valores de 17-OHP, Androstendiona, DHEAS y testosterona durante la pubertad en función de la forma clínica

Durante la pubertad se han analizado, además, los valores de TSH y T4 libre así como los de IGF1 e IGFBP3 por la repercusión que estos pueden tener sobre el crecimiento.

Ningún paciente presentó patología tiroidea ni alteración en los factores de crecimiento periféricos. En la tabla 64 se recogen los valores hormonales obtenidos en ambos grupos de pacientes. Aparecen niveles de IGFBP3 más elevados en pacientes con forma virilizante simple estadísticamente significativos respecto a los encontrados en forma pérdida salina, aunque en ambos grupos las cifras de IGFBP3 están dentro de valores normales.

	PS Mediana (p25-p75)	VS Mediana (p25-p75)	P
TSH (mUI/L) VN: 0,14-4,10	2,50 (1,89-3,32)	2,00 (1,86-2,32)	0,293
T4 libre (ng/dl) VN: 0,76-1,7	1,00 (0,90-1,30)	0,90 (0,90-1,00)	0,110
IGF1 (µg/L) VN: 87-377	218 (181-283)	249 (202-319)	0,366
IGFBP3 (mg/L) VN: 1,73-5,49	4,29 (4,09-4,60)	5,10 (4,26-5,29)	0,048

Tabla 64. Valores de hormonas tiroideas y factores de crecimiento en la pubertad.

4.2.3.e. Valoración de la edad ósea durante la pubertad

La maduración ósea durante la etapa puberal no difiere en función del sexo ($p = 0,160$) pero sí según la forma clínica ($p = 0,024$), tal y como se representa en la figura X y se detalla en la tabla 65.

EO/EC	Sexo		Forma clínica	
	Varones	Mujeres	PS	VS
Pubertad	0,86±0,24	1,00±0,20	0,81±0,16	1,08±0,27
	$p = 0,160$		$p = 0,024$	

Tabla 65. Evolución de la edad ósea durante el seguimiento.

A los dos y tres años, la edad ósea es inferior a la edad cronológica en los niños y en las niñas, sin embargo al llegar a la pubertad en las niñas la edad ósea avanza hasta ser acorde a la edad cronológica.

En la forma virilizante simple, la edad ósea en la pubertad está avanzada respecto a la edad cronológica ($1,08 \pm 0,27$), al contrario de lo que ocurre en la forma pierde sal en la que el ratio EO/EC siempre es inferior a 1 ($0,81 \pm 0,16$), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,024$).

En la figura 48 se representa la evolución de la edad ósea respecto a la edad cronológica a lo largo del seguimiento de los pacientes. Tal y como se aprecia, en la mayoría de niños y niñas el ratio EO/EC es inferior a 1, por lo que no existe una aceleración de la maduración ósea en la mayoría de ellos.

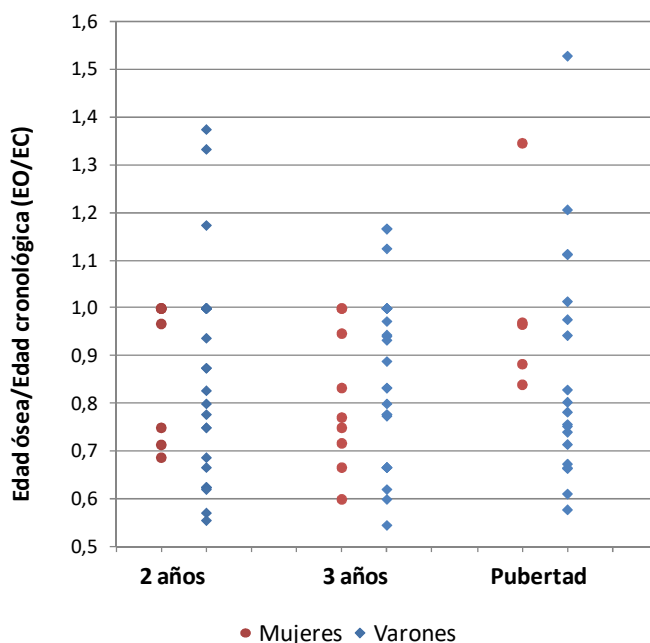


Figura 47. Ratio EO/EC a los 2 y 3 años y en la edad puberal según sexo.

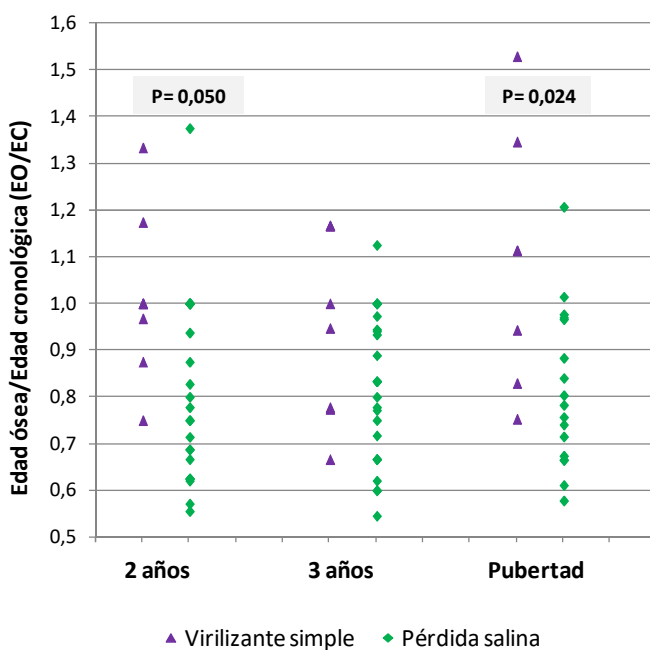


Figura 48. Ratio EO/EC a los 2 y 3 años y en la edad puberal según forma clínica.

El ratio entre edad ósea y edad cronológica en el grupo con forma virilizante simple fue mayor que en el de pérdida salina ($1,08 \pm 0,28$ y $0,81 \pm 0,16$, respectivamente) ($p = 0,024$) (figura 49).

Sin tener en cuenta la forma clínica, en las mujeres la relación entre edad ósea y edad cronológica fue $1,00 \pm 0,20$ y en los varones $0,86 \pm 0,24$, sin encontrarse diferencia estadísticamente significativa en función del sexo ($p = 0,16$) (figura 49).

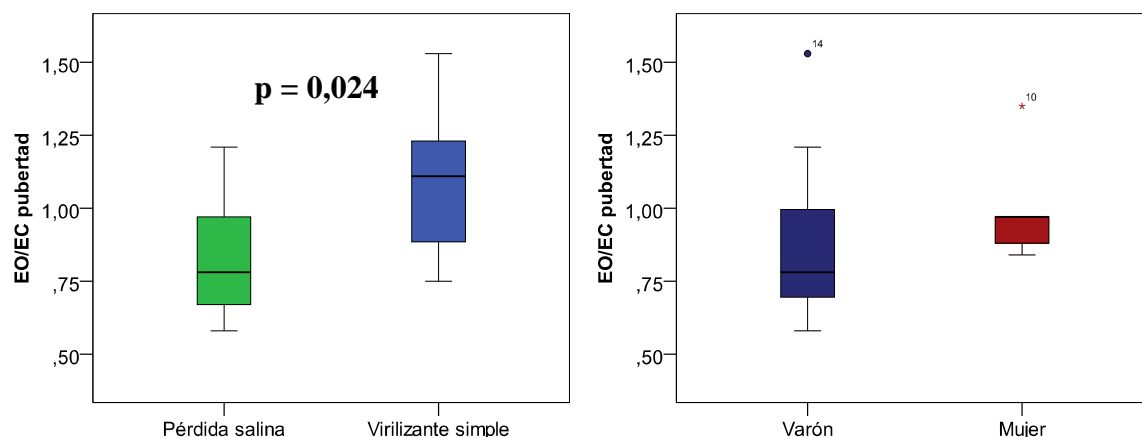


Figura 49. Representación gráfica de la relación entre edad ósea y edad cronológica durante la pubertad entre los dos grupos de formas clínicas y según el sexo.

Existe una correlación positiva ($R = 0,720$) entre el ratio EO/EC en la pubertad y la talla en la pubertad, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,004$). Si en la pubertad la edad ósea está acelerada respecto a la edad cronológica, la talla en la pubertad es más alta (tabla 66).

EO/EC	Z-score de la talla					
	3 meses	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses	Pubertad
Pubertad	R= 0,407 p = 0,067	R= 0,447 p = 0,042	R= 0,212 p = 0,344	R= -0,145 p = 0,521	R= -0,029 p = 0,895	R= 0,720 p = 0,004

Tabla 66. Correlación entre maduración ósea en la pubertad y Z-score de la talla.

No se ha encontrado asociación entre las dosis de hidrocortisona empleadas en los 3 primeros años de vida y la maduración ósea en la edad puberal (tabla 67).

EO/EC	Hidrocortisona				
	3 meses	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses
Pubertad	R = -0,103 p = 0,655	R = -0,120 p = 0,605	R = -0,107 p = 0,636	R = 0,029 p = 0,897	R = 0,017 p = 0,939

Tabla 67. Correlación entre maduración ósea en la pubertad y dosis de hidrocortisona de los 3 primeros años de vida.

Se ha encontrado una correlación negativa entre el ratio EO/EC y la dosis de fludrocortisona (tabla 68). A mayor dosis de mineralcorticoide a los 6, 12, 24 y 36 meses, menor ratio EO/EC en la pubertad ($R = -0,492, -0,643, -0,655, -0,445$ respectivamente), siendo esta relación estadísticamente significativa ($p = 0,020; 0,001; 0,001; 0,038$ respectivamente).

EO/EC	9 α fludrocortisona				
	3 meses	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses
Pubertad	R= -0,398 p = 0,067	R= -0,492 p = 0,020	R= -0,643 p = 0,001	R= -0,655 p = 0,001	R= -0,445 p = 0,038

Tabla 68. Correlación entre maduración ósea en la pubertad y dosis de fludrocortisona de los 3 primeros años de vida.

4.2.4. Valoración durante la edad adulta

4.2.4.a. Edad a la que se alcanzó la talla adulta

De los pacientes en seguimiento, 15 (10 varones, 5 mujeres) han alcanzado talla adulta con una edad media 18,03 años (\pm 2,84 DE) (tabla 69). La edad media a la que se alcanzó la talla adulta en las mujeres fue 18,13 años (\pm 2,17) y en los varones 17,97 años (\pm 3,24). Según la forma clínica, los pacientes con pérdida salina alcanzaron su talla adulta a la edad de 19,05 años (\pm 3,19) frente a los virilizantes simples que la alcanzaron a los 16,48 años (\pm 1,28).

Edad		Años	p
Global		18,03 \pm 2,84	
Sexo	Varones	17,97 \pm 3,24	-
	Mujeres	18,13 \pm 2,17	
Forma clínica	Pérdida salina	19,05 \pm 3,19	0,113
	Virilizante simple	16,48 \pm 1,28	

Tabla 69. Descripción de la edad a la que se alcanzó talla adulta.

4.2.4.b. Peso e IMC en la edad adulta

El peso medio al llegar a edad adulta es 65,23 \pm 12,50 kg (IC 95%: 58,30; 72,15) y Z-score 0,50 \pm 1,48 (IC 95%: -0,31; 1,32). El IMC medio en edad adulta es 23,46 \pm 5,14 kg/m² (IC 95%: 20,61; 26,31) y el Z-score del IMC 0,62 \pm 1,89 (IC 95%: -0,42; 1,67).

El peso medio en varones es superior al de las mujeres (p = 0,048), sin embargo ni la talla ni el IMC difiere en función del sexo (tabla 70 y figura 50). No se han encontrado diferencias en peso, talla ni IMC en función de la forma clínica (tabla 71 y figura 51).

En nuestra muestra tan solo dos pacientes varones presentaron obesidad (IMC >2 DE) en la edad puberal y la mantuvieron hasta edad adulta (el paciente n°11 presentó IMC en +2,86 en la pubertad y +2,73 al llegar a edad adulta y el paciente n°14 pasó de +6,90 a +6,11). Ninguna mujer presentó obesidad en pubertad ni en edad adulta.

Durante la pubertad 3 varones presentaron sobrepeso (IMC +1,10; +1,15 y +1,58 DE) y 2 lo hicieron durante la edad adulta (IMC +1,22 y +1,29 DE). En la pubertad 1 mujer presentó sobrepeso (IMC +1,83 DE) normalizado posteriormente y 1 mujer presentó IMC en rango de sobrepeso en la edad adulta (IMC +1,2 DE).

	Varones	Mujeres	p
Peso (kg)	70,08 ± 10,57	55,54 ± 10,93	0,040
Z- score del peso	0,65 ± 1,42	0,21 ± 1,72	0,513
Talla (cm)	169,30 ± 7,75	162,80 ± 6,49	0,129
Z- score de la talla	-1,04 ± 1,28	0,27 ± 1,13	0,099
IMC (kg/m²)	24,76 ± 5,53	20,88 ± 3,35	0,254
Z- score del IMC	1,01 ± 2,12	-0,16 ± 1,10	0,254

Tabla 70. Evolución del peso, talla e IMC, comparativa entre el grupo de varones y mujeres.

	PS	VS	p
Peso (kg)	62,95 ± 11,45	68,65 ± 14,31	0,607
Z- score del peso	0,35 ± 1,42	0,73 ± 1,67	0,689
Talla (cm)	168,66 ± 4,97	164,83 ± 10,95	0,456
Z- score de la talla	-0,07 ± 0,97	-1,39 ± 1,53	0,066
IMC (kg/m²)	22,06 ± 3,36	25,58 ± 6,86	0,456
Z- score del IMC	0,09 ± 1,09	1,41 ± 2,61	0,456

Tabla 71. Evolución del peso, talla e IMC, comparativa entre el grupo de pérdida salina y el de virilizante simple a la edad adulta.

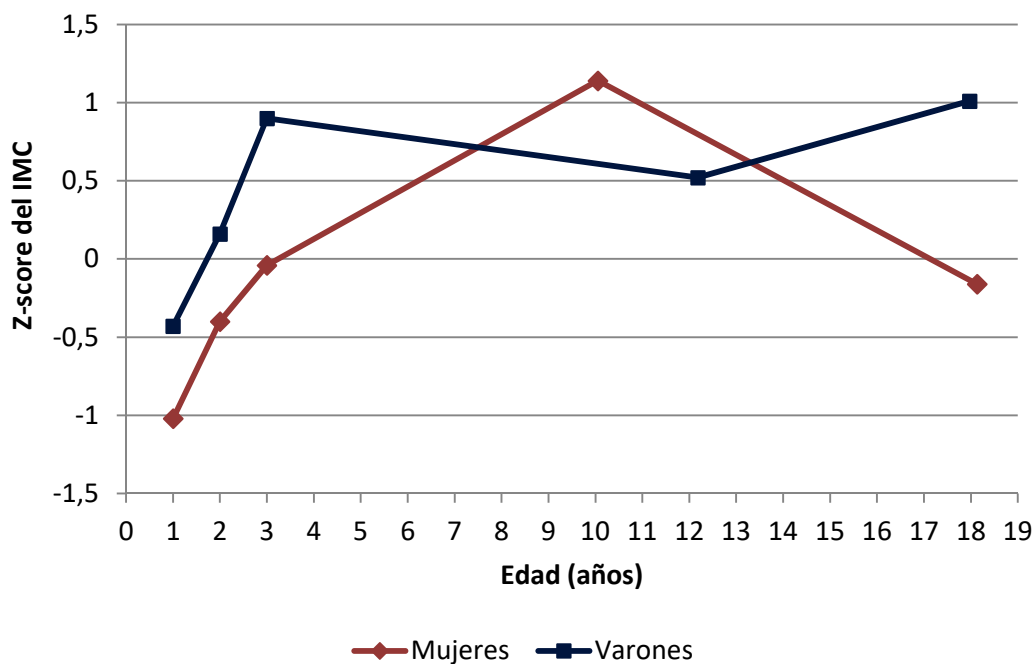


Figura 50. Z-score del IMC durante el seguimiento en función del sexo.

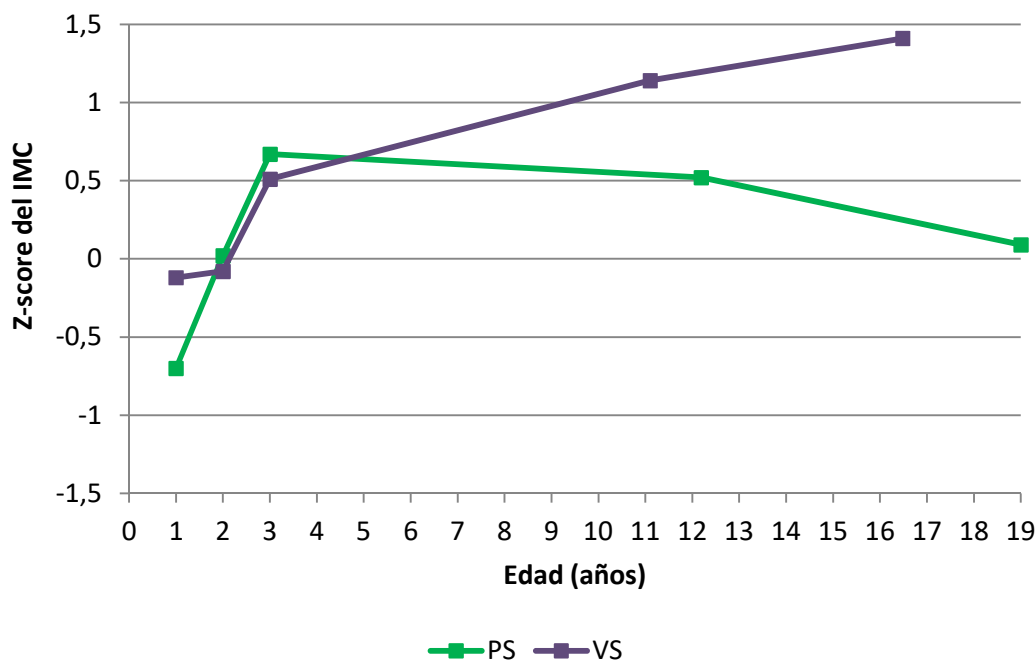


Figura 51. Z-score del IMC durante el seguimiento en función de la forma clínica.

4.2.4.c. Talla en la edad adulta

La talla adulta media obtenida en nuestra muestra es $167,13 \pm 7,79$ cm (IC 95%: 162,81; 171,45) y el Z-score medio de la talla adulta es $-0,60 \pm 1,35$ (IC 95%: -1,35; 0,14), por tanto la talla media adulta es inferior a la media poblacional. De los 15 pacientes (tabla 72) que han llegado a edad adulta, 11 han alcanzado una talla adulta acorde a la genética ± 5 cm. En 4 casos la talla adulta alcanzada ha sido inferior a su talla genética -5cm

Caso	Sexo	Forma clínica	Talla adulta (cm)	Z-score de talla adulta	Talla genética (cm)	Z-score de talla genética	TA-TG (cm)
1	V	PS	168	-1,26	174,72	-0,15	-6,72
2	V	PS	177	0,23	176,72	0,19	0,28
3	V	PS	167	-1,42	172,72	-0,48	-5,72
4	V	VS	181	0,89	180,50	0,81	0,50
5	V	PS	172	-0,6	175,22	-0,06	-3,22
6	M	PS	160,5	-0,13	162,78	0,27	-2,28
7	M	PS	169,5	1,44	160,78	-0,08	8,72
9	M	PS	167,5	1,09	170,78	1,66	-3,28
10	M	PS	153	-1,19	153,30	-1,39	-0,30
11	V	VS	160	-1,54	168,50	-1,18	-8,50
12	V	VS	168	-1,26	165,00	-1,75	3,00

Caso	Sexo	Forma clínica	Talla adulta (cm)	Z-score de talla adulta	Talla genética (cm)	Z-score de talla genética	TA-TG (cm)
14	V	VS	154,5	-3,49	171,50	-0,68	-17,00
15	V	VS	172,5	-0,51	174	-0,26	-1,50
17	V	PS	173	-0,43	172,5	-0,51	0,50
20	M	PS	163,5	0,39	161,28	0,00	2,22

Tabla 72. Descripción de los pacientes en edad adulta. Comparativa entre talla adulta y pronóstico de talla adulta versus talla genética.

La paciente número 9, afecta de forma pierde sal, presentó mala adherencia al tratamiento y a las revisiones médicas. Llegó a presentar un episodio convulsivo por hipoglucemia. Presentó un adelanto de la maduración ósea tres años por delante de su edad cronológica y en la exploración física hipertrofia de clítoris coincidiendo con los periodos de mala adherencia terapéutica. Su talla adulta fue acorde a su talla genética.

El paciente 17 fue tratado con anastrozol. La talla adulta alcanzada fue 0,5 cm superior a su talla genética y durante el tratamiento no presentó efectos secundarios.

Los pacientes que no alcanzaron su talla genética fueron:

- Paciente 1: varón afecto de forma pierde sal, diagnosticado clínicamente a los 18 días de vida por haber nacido previo al inicio del Cribado Neonatal de la CAM. Presenta talla adulta 6,72 cm inferior a su talla diana. El ratio EO/EC en la pubertad fue 1,21. Buena adherencia al tratamiento. La dosis media de hidrocortisona recibida en la pubertad fue 24,69 mg/m²/día y en la edad adulta 22,2 mg/m²/día. La dosis de mineralcorticoide recibida en pubertad y edad adulta fue 0,075 mg/día.
- Paciente 3: varón afecto de forma pierde sal, con talla adulta 5,72 cm por debajo de su talla diana. Buena adherencia al tratamiento. La dosis media de hidrocortisona en la pubertad fue 23,49 mg/m²/día y en la edad adulta 16,48 mg/m²/día y la dosis de mineralcorticoides en pubertad y edad adulta 0,0375 mg/día.
- Paciente 11: varón afecto de forma virilizante simple, con talla adulta 8,50 cm inferior a su talla diana. Presentó pubertad precoz. Ratio EO/EC en la pubertad 1,11. Mala adherencia al tratamiento (dosis hidrocortisona prepuberal: 11,58 mg/m²/día y en edad adulta: 13,73 mg/m²/día). Fenotipo muy virilizado. Cifras de 17-OHP durante el seguimiento elevadas.

- Paciente 14: varón afecto de forma virilizante simple, con talla adulta 17 cm por debajo a su talla genética. El ratio EO/EC puberal fue 1,53. Mala adherencia al tratamiento y al seguimiento en consultas. Abandono del tratamiento durante 2 años.

En la figura 52 se representa la evolución del Z-score de la talla de cada uno de los pacientes que han llegado a edad adulta, desde el nacimiento hasta la alcanzar la talla adulta.

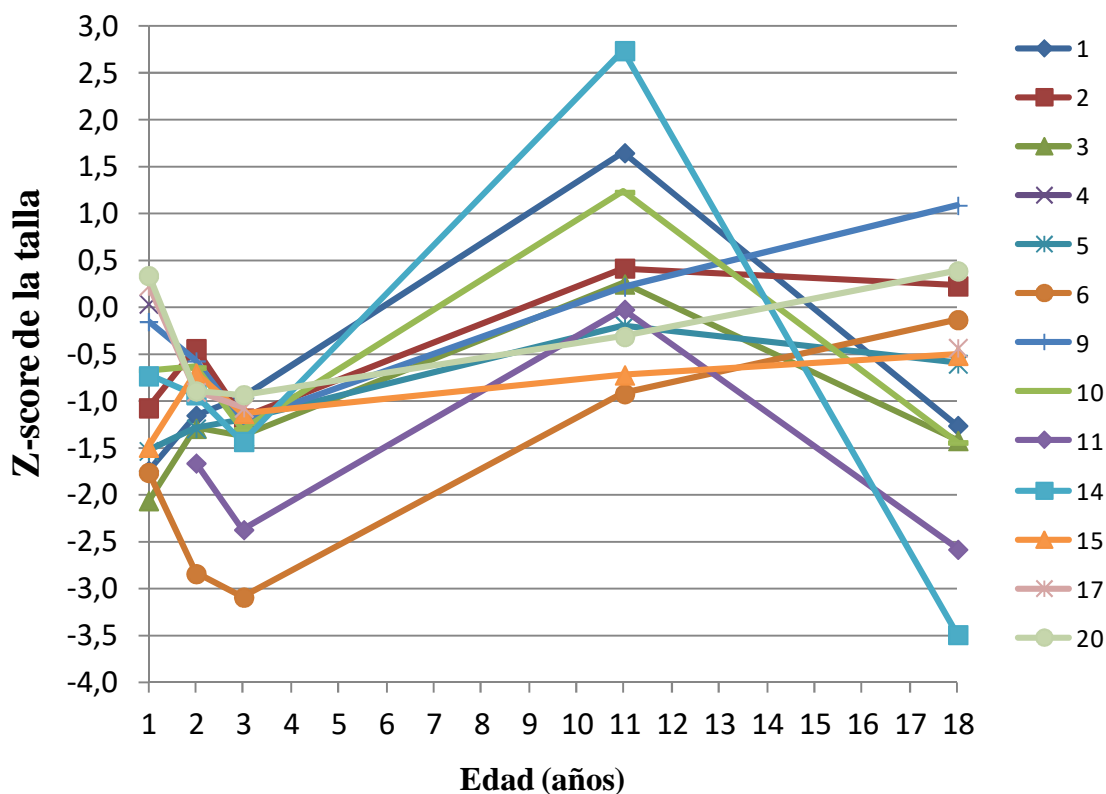


Figura 52. Representación de la evolución del Z-score de la talla de los pacientes que han alcanzado talla adulta.

La talla adulta media alcanzada por los varones es $169,30 \pm 7,75$ cm y por las mujeres $162,80 \pm 6,49$ cm. Al comparar la talla adulta respecto a la población española de referencia, el z-score de la talla en los varones es $-1,04 \pm 1,28$ y en las mujeres $0,27 \pm 1,13$ (figura 53).

Al analizar la talla adulta conseguida en función de la forma clínica (figura 54), la talla media alcanzada en la forma pérdida salina es $168,66 \pm 4,97$ cm y en la virilizante simple es $164,83 \pm 10,95$ cm. El Z-score de la talla adulta en la forma pérdida salina es $-0,07 \pm 0,97$ y en la virilizante simple es $-1,39 \pm 1,53$.

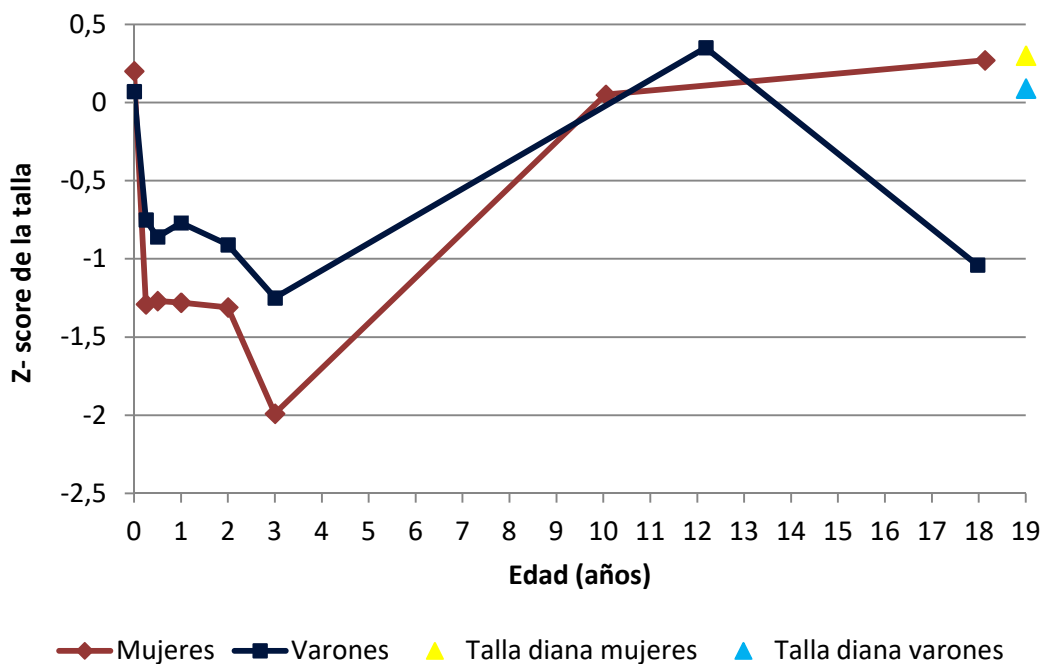


Figura 53. Z-score de la talla durante el seguimiento en función del sexo

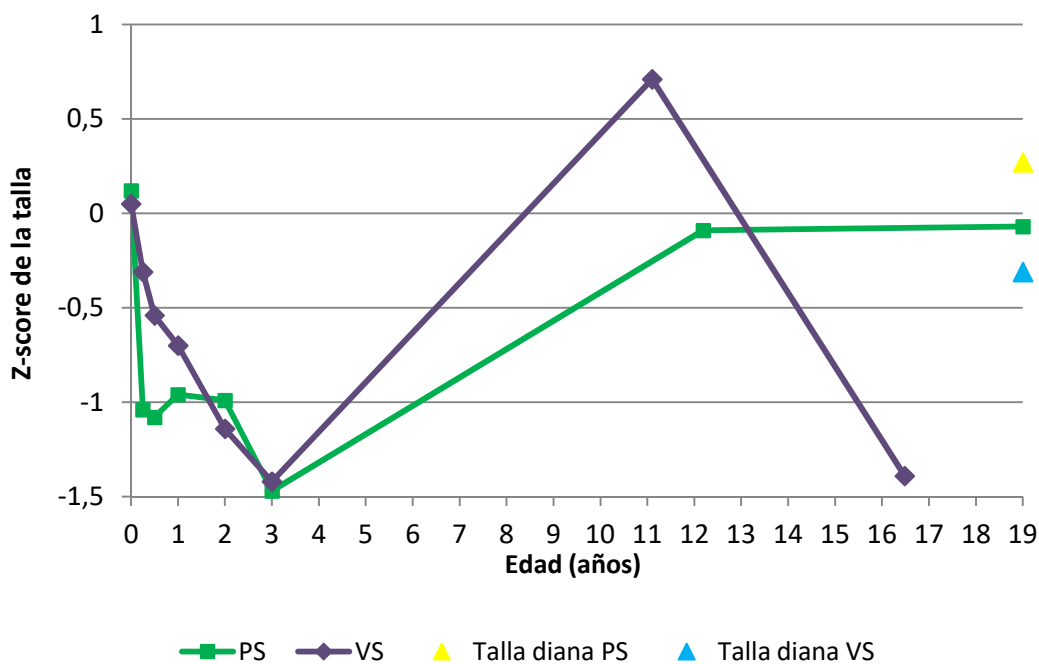


Figura 54. Z-score de la talla durante el seguimiento en función de la forma clínica.

i. Diferencia entre talla adulta y talla genética

La diferencia entre talla adulta y talla genética de nuestra muestra es $5,74 \pm 5,7$ cm, $0,058 \pm 0,666$ DE.

Los varones presentan una diferencia de talla adulta respecto a genética de $-3,83 \pm 5,90$ cm (IC 95%: $-8,06; 0,38$), siendo el valor mínimo: -17 cm y el valor máximo: 3 cm.

La diferencia media entre talla adulta- talla genética en las mujeres es positiva $1,01 \pm 4,79$ cm (IC 95%: -4,93; 6,96), es decir la talla adulta de la mujer supera a la media genética de este grupo. El valor mínimo obtenido ha sido -3,28 cm y el máximo: 8,72 cm.

En la forma pierde sal, la talla adulta difiere de la genética en $-1,05 \pm 4,68$ DE (IC 95%: -4,65; 2,54), valor mínimo: -6,72 cm y máximo: 8,72 cm. En la forma virilizante simple, esta diferencia es mayor $-3,96 \pm 7,46$ cm (IC 95%: -11,79; 3,86), valor mínimo: -17 cm y valor máximo: 3 cm.

Al analizar cuanto difiere la talla adulta alcanzada respecto a la talla genética en cada paciente, los resultados obtenidos en función del sexo y la forma clínica, no han revelado diferencias estadísticamente significativas, tal y como se resume en la tabla 73 y se representa en la figura 55.

	Talla adulta – Talla genética (cm)	p	Talla adulta – talla genética DE	p
Global	$-5,74 \pm 5,72$	-	$0,05 \pm 0,66$	-
PS	$-1,05 \pm 4,68$	0,776	$0,16 \pm 0,79$	0,776
VS	$-3,96 \pm 7,46$		$-0,64 \pm 1,23$	
Varones	$-3,83 \pm 5,90$	0,310	$-0,62 \pm 0,97$	0,310
Mujeres	$1,01 \pm 4,79$		$0,17 \pm 0,83$	

Tabla 73. Diferencia entre talla adulta alcanzada y talla genética (cm y Z-score) en la muestra global, según forma clínica y sexo.

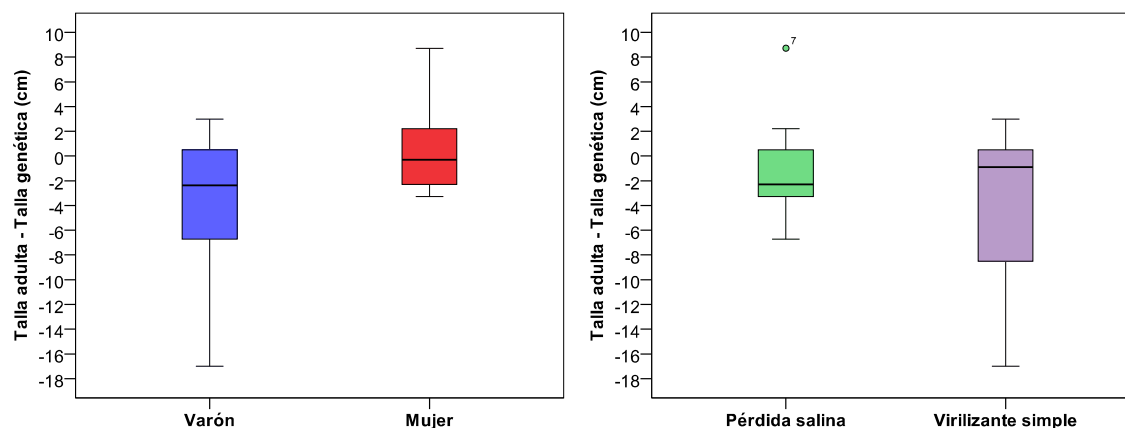


Figura 55. Representación gráfica de la diferencia entre talla adulta y talla genética alcanzadas según sexo y forma clínica

La diferencia entre el Z score de la talla adulta con el Z score de la talla genética de cada individuo es $0,425$ DE (IC 95%: -0,146; 0,997). Esta diferencia no alcanza significación estadística ($p = 0,132$).

ii. Pronóstico de talla adulta y talla genética

En los pacientes que no han alcanzado talla adulta, se ha calculado el pronóstico de talla adulta mediante el método de Bayley-Pinneau. El pronóstico de talla medio es $176,89 \pm 9,48$ cm (mínimo: 157,10 cm y máximo: 189,30 cm).

La diferencia entre PTA y talla genética de nuestra muestra es $2,34 \pm 5,63$ cm (mínimo: -8,20 cm y máximo 11,86 cm).

En la tabla 74, se detallan los pacientes en los que se ha calculado el pronóstico de talla adulta (PTA) mediante el método de Bayley-Pinneau.

Caso	Sexo	Forma clínica	PTA (cm)	Z-score de PTA	Talla genética (cm)	Z-score de talla genética	PTA-TG (cm)
16	V	PS	186,9	1,87	175,22	-0,06	11,68
18	V	PS	179,6	0,66	175,50	-0,02	4,10
19	V	PS	180,7	0,84	176	0,07	4,70
21	M	VS	157,1	-0,73	165,3	0,71	-8,20
22	V	PS	176,2	0,1	178,0	0,40	-1,80
23	V	VS	174,6	-1,61	168,50	-1,18	6,10
24	V	PS	175,6	0	-	-	-
25	V	VS	186,8	1,85	177,25	0,27	9,55
26	V	PS	189,3	2,27	192	2,72	-2,70
27	V	PS	172,5	-0,51	174,70	-0,15	-2,20
29	M	PS	166,5	0,92	162	0,13	4,50

Tabla 74. Descripción de los pacientes en los que se ha calculado el pronóstico de talla adulta (PTA). Comparativa entre PTA versus talla genética (TG).

La paciente 21 ha recibido tratamiento con hormona de crecimiento pese a lo cual su pronóstico de talla adulta es 8,20 cm menor que su talla diana.

Los pacientes 22 y 25 fueron tratados con anastrozol durante un período de tiempo aproximado de dos años, sin presentar en ningún caso efectos adversos. En ambos pacientes el pronóstico de talla adulta es acorde a su talla genética.

iii. Talla adulta y pronóstico de talla adulta respecto a talla genética

Al analizar de forma conjunta la talla adulta y el pronóstico de talla adulta (tabla 75) de nuestra muestra el Z-score de la talla en los varones está por debajo de la media poblacional ($-0,20 \pm 1,48$) y en las mujeres por encima ($0,22 \pm 1,04$).

		TA/PTA (cm) Media ± DE	P	Z-score TA/PTA	P
Global		171,26 ± 9,70		-0,09 ± 1,37	
Sexo	Varones	174,48 ± 8,84	0,002	-0,20 ± 1,48	0,498
	Mujeres	162,51 ± 5,97		0,22 ± 1,04	
Forma clínica	PS	173,25 ± 7,85	0,241	0,35 ± 1,00	0,017
	VS	167,50 ± 12,11		-0,98 ± 1,63	

Tabla 75. Talla adulta y pronóstico de talla adulta medio y Z-score en la muestra global y según sexo y forma clínica.

Si se analiza de forma conjunta talla adulta y PTA respecto a talla genética (tabla 76) la diferencia media encontrada es $-0,28 \pm 6,21$ cm (mínimo: $-2,81$ y máximo $1,81$ cm). El Z-score de esta diferencia es $-0,10 \pm 1,01$ (mínimo $-2,81$ y máximo $1,81$).

No se han encontrado diferencias significativas entre la talla adulta y pronóstico de talla respecto a la talla genética entre el grupo de varones y el de mujeres ($p = 1,000$) ni entre la forma pierde sal y la virilizante simple ($p = 0,711$).

		TA/PTA – TG (cm) Media ± DE	P	Z-score TA/PTA – TG Media ± DE	P
Global		$-0,28 \pm 6,21$		$-0,10 \pm 1,01$	
Sexo	Varones	$-0,46 \pm 6,58$	1,000	$-0,15 \pm 1,05$	0,866
	Mujeres	$0,19 \pm 5,54$		$0,03 \pm 0,96$	
Forma clínica	PS	$-0,52 \pm 4,97$	0,711	$0,03 \pm 0,84$	0,672
	VS	$-1,81 \pm 8,20$		$-0,36 \pm 1,30$	

Tabla 76. Diferencia entre talla adulta alcanzada y talla genética (cm y Z-score) en la muestra global, según forma clínica y sexo.

Al comparar cada paciente con su talla genética, de los 26 pacientes analizados (15 talla adulta y 11 PTA), 21 alcanzan una TA/PTA mayor o igual a su talla genética. En 5 pacientes la TA/PTA es inferior a su TG: 2 varones con forma pierde sal cuya diferencia respecto a talla genética es $-6,72$ y $-5,72$ cm respectivamente y 3 con forma virilizante simple (1 mujer con talla inferior a $8,20$ cm respecto a talla diana y 2 varones con tallas inferiores a $8,50$ cm y 17 cm, respectivamente).

Al comparar el Z score de la talla adulta y pronóstico de talla adulta de cada individuo con su talla genética, la diferencia media obtenida es $0,132$ DE (IC 95%: $-0,311$; $0,577$). Esta diferencia no alcanza significación estadística ($p = 0,542$).

iv. Correlación entre talla en primeros tres años de vida y talla adulta

Se ha encontrado una correlación directa entre la talla a los 36 meses de edad y la talla adulta ($R = 0,692$) que alcanza significación estadística ($p = 0,009$), cuanto mayor sea la talla a los 3 años mayor talla adulta (tabla 77). La talla a los 24 meses de edad también guarda una correlación positiva con el Z-score de la talla y pronóstico de talla adulta ($R=0,490$; $p=0,015$).

Correlación (R) Valor p	TA (cm)	Z-score TA	Z-score TA/PTA
Al diagnóstico	R = -0,224 p = 0,484	R = 0,098 p = 0,762	R = -0,036 p = 0,870
3 meses	R = 0,066 p = 0,831	R = -0,225 p = 0,459	R = -0,112 p = 0,593
6 meses	R = -0,294 p = 0,329	R = 0,014 p = 0,964	R = 0,248 p = 0,232
12 meses	R = 0,154 p = 0,633	R = 0,462 p = 0,131	R = 0,340 p = 0,104
24 meses	R = 0,465 p = 0,109	R = 0,539 p = 0,057	R = 0,490 p = 0,015
36 meses	R = 0,692 p = 0,009	R = 0,527 p = 0,064	R = 0,393 p = 0,052
Pubertad	R = -0,039 p = 0,901	R = -0,242 p = 0,426	R = -0,055 p = 0,833

Tabla 77. Correlación entre la talla en los primeros años de vida y la talla adulta.

4.2.4.d. Tratamiento durante la edad adulta.

En la edad adulta la dosis media de hidrocortisona es $15,27 \pm 3,68$ mg/m²/día (mínimo: 9,49 y máximo: 22,20) y la de fludrocortisona es $0,075 \pm 0,031$ mg/día (mínimo: 0,025 y máximo: 0,125) (tabla z).

Las dosis de hidrocortisona y fludrocortisona no difieren entre hombres y mujeres pero si lo hacen según la forma clínica (tabla 78). Los pacientes afectados de forma pérdida salina necesitan dosis mayores de hidrocortisona y de fludrocortisona que los afectados de forma virilizante simple.

		Hidrocortisona (mg/m ² /día)	p	Fludrocortisona (mg/día)	p
Sexo	Varones	14,69 ± 4,24	0,440	0,07 ± 0,03	0,833
	Mujeres	16,43 ± 2,09		0,07 ± 0,01	
Forma clínica	PS	16,55 ± 3,05	0,050	0,08 ± 0,02	0,020
	VS	13,35 ± 3,95		0,04 ± 0,01	

Tabla 78. Dosis medias de hidrocortisona y fludrocortisona empleadas en la edad adulta.

i. Correlación entre dosis de hidrocortisona y talla adulta (tabla 79)

- Dosis utilizadas en los tres primeros años de vida: No se ha encontrado relación entre las dosis de hidrocortisona empleadas en los 3 primeros años de vida y la talla adulta.
- Dosis utilizadas en la pubertad: No se han encontrado correlaciones entre las dosis de hidrocortisona empleadas en la pubertad y el Z score de la talla adulta ($R = 0,142$, $p = 0,586$) ni con la diferencia entre talla adulta/pronóstico de talla adulta y talla genética (DE) ($R = 0,103$, $p = 0,694$).

Dosis hidrocortisona	Talla adulta (cm)	Z score de la talla adulta	Z score de la talla adulta y pronóstico de talla adulta
3 meses	$R = -0,212$ $p = 0,487$	$R = 0,030$ $p = 0,922$	$R = -0,155$ $p = 0,459$
6 meses	$R = -0,193$ $p = 0,527$	$R = -0,171$ $p = 0,576$	$R = -0,273$ $p = 0,187$
12 meses	$R = -0,095$ $p = 0,770$	$R = 0,172$ $p = 0,593$	$R = -0,137$ $p = 0,523$
24 meses	$R = -0,066$ $p = 0,831$	$R = 0,247$ $p = 0,415$	$R = 0,201$ $p = 0,346$
36 meses	$R = -0,105$ $p = 0,734$	$R = 0,217$ $p = 0,476$	$R = 0,390$ $p = 0,054$

Tabla 79. Correlación entre dosis de hidrocortisona y talla adulta.

- Dosis utilizadas en la edad adulta: No se ha encontrado correlación entre las dosis de hidrocortisona empleadas en la edad adulta y el Z score de la talla adulta ($R = 0,399$, $p = 0,177$) ni con la diferencia entre talla adulta/pronóstico de talla adulta y talla genética ($R = 0,070$, $p = 0,805$).

ii. Correlación entre dosis de fludrocortisona y talla adulta (tabla 80)

- Dosis utilizadas en los tres primeros años de vida: Existe una correlación directa débil entre la dosis de 9α fludrocortisona a los 3, 6 y 12 meses con el Z-score de la talla adulta y pronóstico de talla adulta.

Dosis fludrocortisona	Talla adulta (cm)	Z score de la talla adulta	Z score de la talla adulta y pronóstico de talla adulta
3 meses	R = -0,002 p = 0,994	R = 0,344 p = 0,229	R = 0,445 p = 0,023
6 meses	R = -0,014 p = 0,963	R = 0,331 p = 0,247	R = 0,422 p = 0,032
12 meses	R = 0,291 p = 0,334	R = 0,443 p = 0,130	R = 0,422 p = 0,036
24 meses	R = 0,316 p = 0,318	R = 0,433 p = 0,160	R = 0,410 p = 0,052
36 meses	R = 0,198 p = 0,538	R = 0,215 p = 0,502	R = 0,216 p = 0,311

Tabla 80. Correlación entre dosis de fludrocortisona y talla adulta.

- Dosis utilizadas en la pubertad: Se ha encontrado una correlación directa no significativa entre la dosis de mineralcorticoide empleada en la pubertad y el Z-score de la talla adulta (R = 0,440, p = 0,176), a mayor dosis de mineralcorticoides en la pubertad más talla adulta (fig 56).

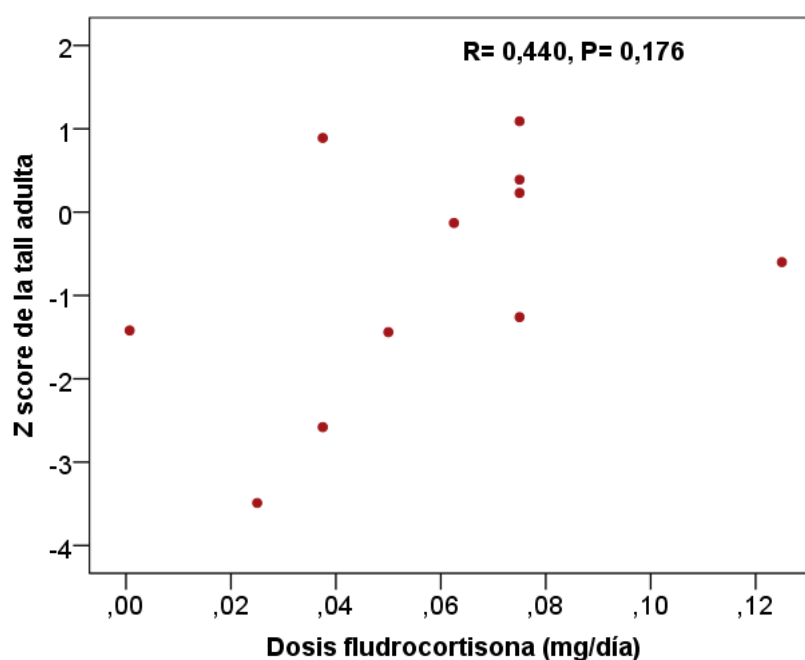


Figura 56. Correlación entre dosis de fludrocortisona empleada en la pubertad y z-score de la talla adulta.

- Dosis utilizadas en la edad adulta: Se ha encontrado una correlación positiva entre la dosis de mineralcorticoide empleada en la edad adulta y la talla adulta, a mayor dosis mayor talla (R = 0,593; p = 0,033).

iii. Correlación entre dosis de hidrocortisona e IMC en edad adulta (tabla 81)

- Dosis utilizadas en los tres primeros años de vida: La dosis de hidrocortisona empleada a los 24 y 36 meses de vida, se relaciona de forma inversa con el IMC alcanzado en la edad adulta ($R = -0,604$ y $R = -0,600$, respectivamente), es decir a mayor dosis de hidrocortisona en esas edades menor IMC en edad adulta.
- Dosis utilizadas en la pubertad y en edad adulta: No se ha encontrado correlación entre el Z-score del IMC en la edad adulta y la dosis de hidrocortisona empleada durante la pubertad ($R=0,192$; $p=0,529$) ni durante la edad adulta ($R=0,270$; $p=0,331$).

Dosis hidrocortisona	IMC en edad adulta	Z score del IMC en edad adulta
3 meses	$R = -0,267$ $p = 0,378$	$R = -0,272$ $p = 0,368$
6 meses	$R = -0,276$ $p = 0,361$	$R = -0,227$ $p = 0,457$
12 meses	$R = -0,463$ $p = 0,129$	$R = -0,435$ $p = 0,157$
24 meses	$R = -0,604$ $p = 0,029$	$R = -0,549$ $p = 0,052$
36 meses	$R = -0,600$ $p = 0,030$	$R = -0,545$ $p = 0,054$

Tabla 81. Correlación entre la dosis de hidrocortisona y el IMC en edad adulta

iv. Correlación entre dosis de fludrocortisona e IMC en edad adulta (tabla 82)

- Dosis utilizadas en los tres primeros años de vida: Se ha encontrado una correlación inversa entre la dosis de fludrocortisona empleadas a los 3 y 6 meses de vida y el IMC/Z-score del IMC en edad adulta ($R = -0,752$, $R = -0,705$ a los 3 meses y $R = -0,750$ y $R = -0,703$ a los 6 meses, respectivamente). A mayor dosis de fludrocortisona, menor IMC en edad adulta.

Dosis Fludrocortisona	IMC en edad adulta	Z-score del IMC en edad adulta
3 meses	$R = -0,752$ $p = 0,002$	$R = -0,705$ $p = 0,005$
6 meses	$R = -0,750$ $p = 0,002$	$R = -0,703$ $p = 0,005$
12 meses	$R = -0,594$ $p = 0,032$	$R = -0,577$ $p = 0,039$
24 meses	$R = -0,564$ $p = 0,056$	$R = -0,546$ $p = 0,066$
36 meses	$R = -0,388$ $p = 0,213$	$R = -0,335$ $p = 0,287$

Tabla 82. Correlación entre la dosis de fludrocortisona y el IMC en la edad adulta.

- Dosis utilizadas en la pubertad y en edad adulta: Existe una correlación inversa entre el Z-score del IMC adulto y las dosis de mineralcorticoides empleadas durante la pubertad ($R = -0,606$; $p = 0,048$) y durante la edad adulta ($R = -0,478$, $p = 0,098$), a mayor dosis de mineralcorticoide en la pubertad y durante la edad adulta, menor IMC en edad adulta.

4.2.4.e. Variables analíticas durante la edad adulta

Se ha analizado el valor de 17-OHP y los valores de insulina y HbA1c al llegar a edad adulta (tabla 83).

Los valores obtenidos de 17-OHP en la forma virilizante simple son más elevados que los encontrados en la forma pérdida salina, sin embargo, la diferencia no es estadísticamente significativa ($p = 0,315$).

	PS Mediana (p25-p75)	VS Mediana (p25-p75)	P
17-OHP (ng/ml)	3,00 (0,10; 32,00)	58,88 (1,79; 125,75)	0,315
Testosterona (ng/ml)	0,10 (0,10; 2,95)	1,80 (0,10;-)	0,817
DHEAS (µg/dl)	15,00 (15,00; 20,00)	29,00 (15,00; -)	0,244
Androstendiona (µg/dl)	0,30 (0,10; 1,35)	8,60 (0,10; -)	0,296

Tabla 83. Valores esteroides suprarrenales durante la edad adulta según forma clínica

En cuanto al metabolismo hidrocarbonado, no se encontraron cifras elevadas de insulina ni HbA1c en ningún paciente (tabla 84).

	PS Mediana (p25-p75)	VS Mediana (p25-p75)	P
Insulina (mUI/L)	5,00 (1,50; 14,00)	8,30 (4,00; -)	0,600
HbA1c (% Hb total)	5,10 (4,95; 5,35)	5,50 (5,20; -)	0,218

Tabla 84. Valores de insulina y HbA1c durante la edad adulta según forma clínica.

Todos los pacientes presentaron niveles de hormonas tiroideas y valores de IGF1 e IGFBP3 normales durante el seguimiento (tabla 85).

	PS Mediana (p25-p75)	VS Mediana (p25-p75)	P
TSH (mUI/L)	3,10 (2,01; 4,87)	2,30 (1,29; -)	0,293
T4 Libre (ng/dl)	1,20 (1,00; 1,32)	0,90 (0,80; -)	0,110
IGF-1 (µg/L)	218,00 (181,00; 283,00)	249,00 (202,00; 319,00)	0,366
IGFBP-3 (mg/L)	4,29 (4,09; 4,60)	5,10 (4,26; 5,29)	0,048

Tabla 85. Valores de hormonas tiroideas y factores de crecimiento según forma clínica.

4.2.4.f. Correlación entre edad ósea puberal y talla adulta

Se ha encontrado una correlación inversa ($R = -0,630$) entre el ratio EO/EC en la pubertad y la talla adulta ($p = 0,038$). A mayor aceleración de la edad ósea en la pubertad, peor talla adulta (figura 57).

Esta misma correlación (figura 58) se encuentra al comparar la edad ósea puberal ($R = -0,533$) con la talla adulta y pronóstico de talla adulta ($p = 0,013$).

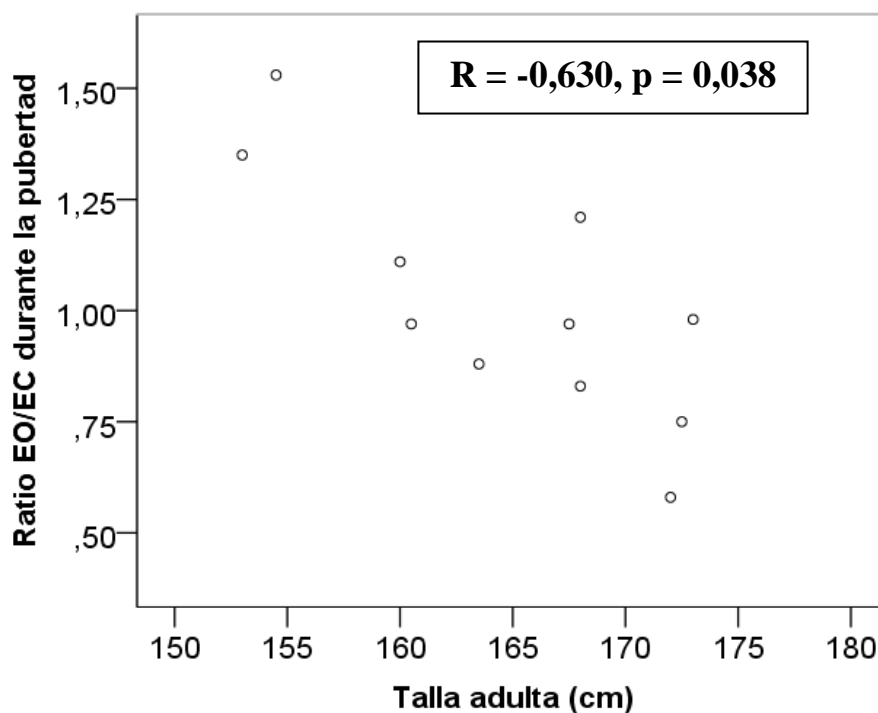


Figura 57. Correlación: ratio EO/EC en la pubertad y talla adulta.

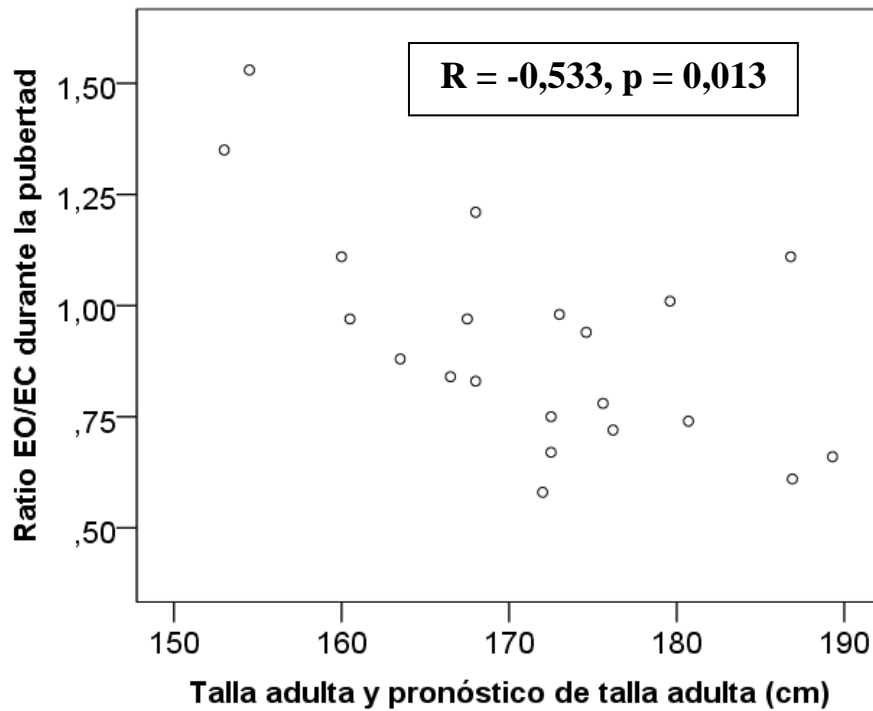


Figura 58. Correlación: ratio EO/EC en la pubertad y talla adulta/pronóstico de talla adulta.

4.2.4.g. Curvas de crecimiento (peso, talla e IMC) de nuestra cohorte de pacientes

En las figuras 59-64 se representan la auxología (peso, talla e IMC) de nuestra cohorte de pacientes desde el nacimiento hasta la edad adulta en comparación con las gráficas de Hdez et al.

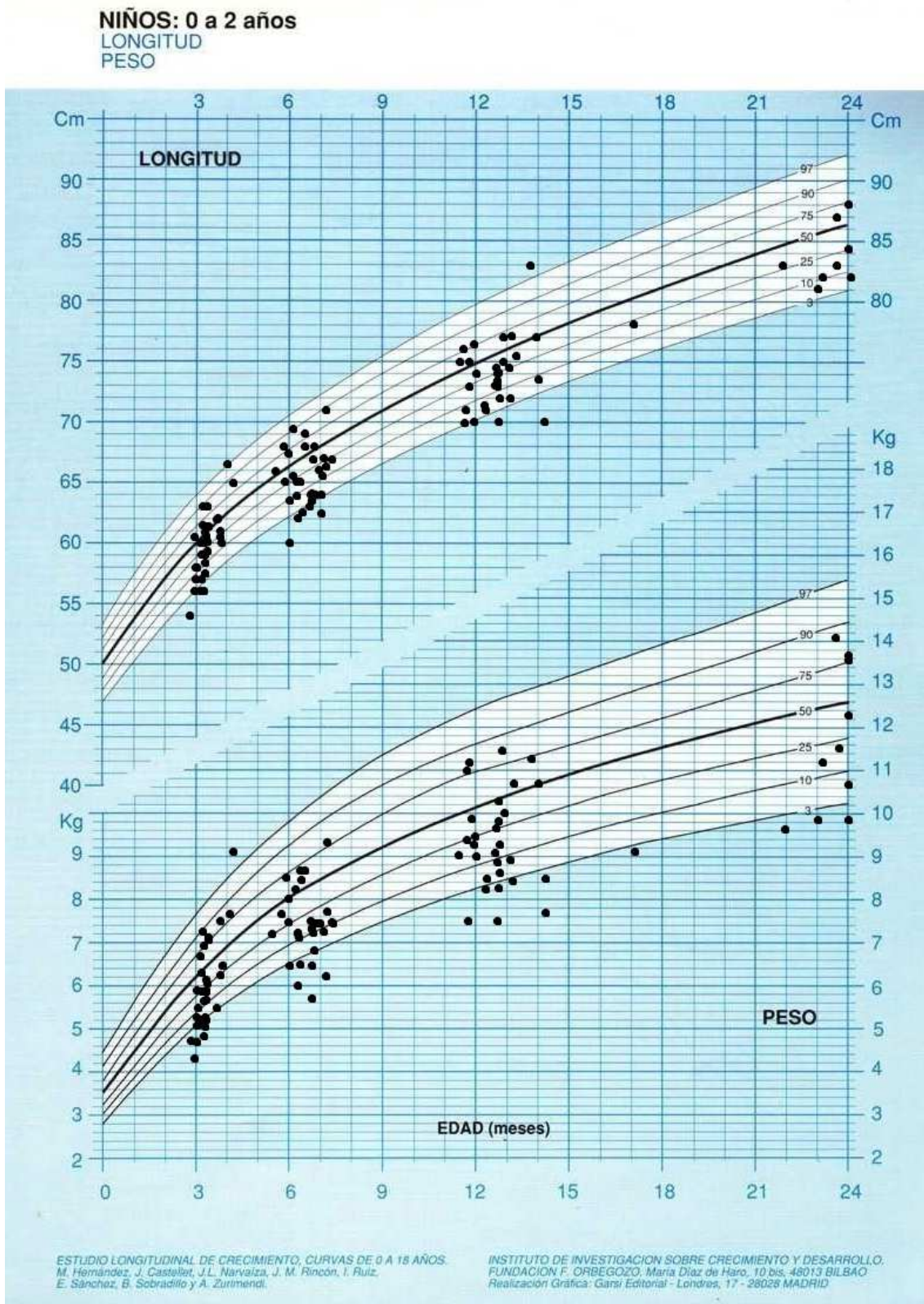


Figura 59. Cohorte de varones: longitud y peso (0-2 años)

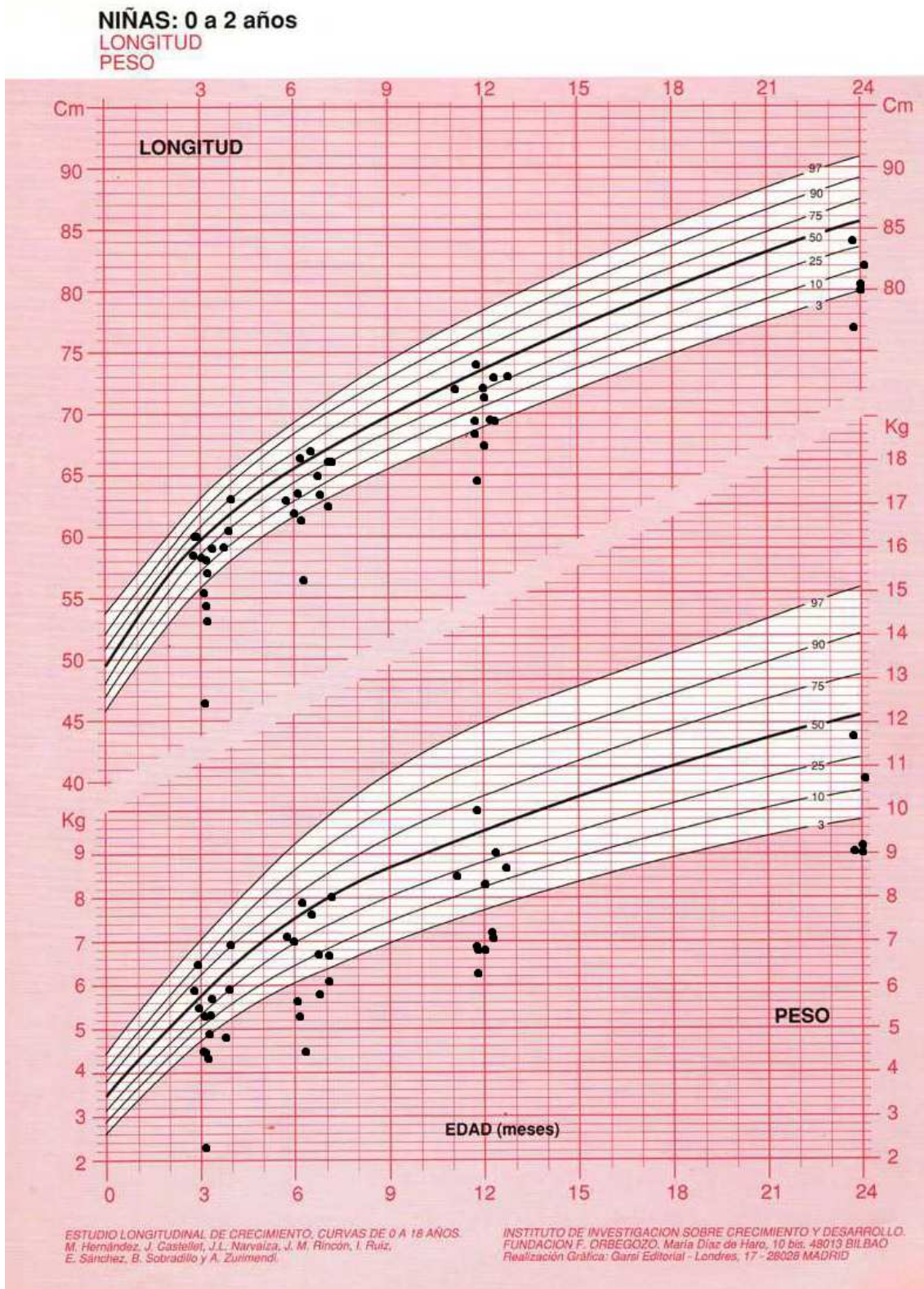


Figura 60. Cohorte de mujeres: longitud y peso (0-2 años)

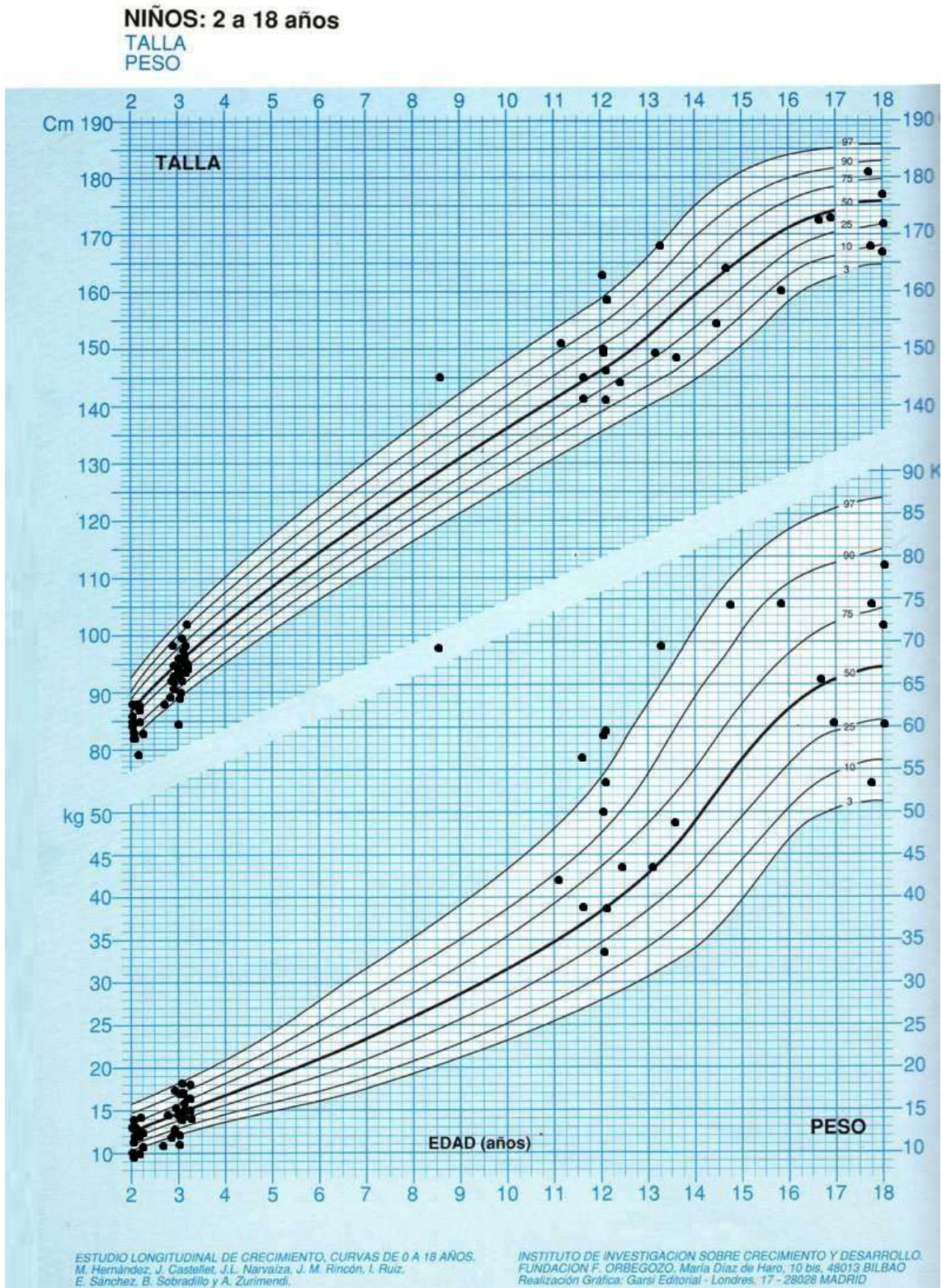


Figura 61. Cohorte de varones: talla y peso (2-18 años).



Figura 62. Cohorte de mujeres: talla y peso (2-18 años).

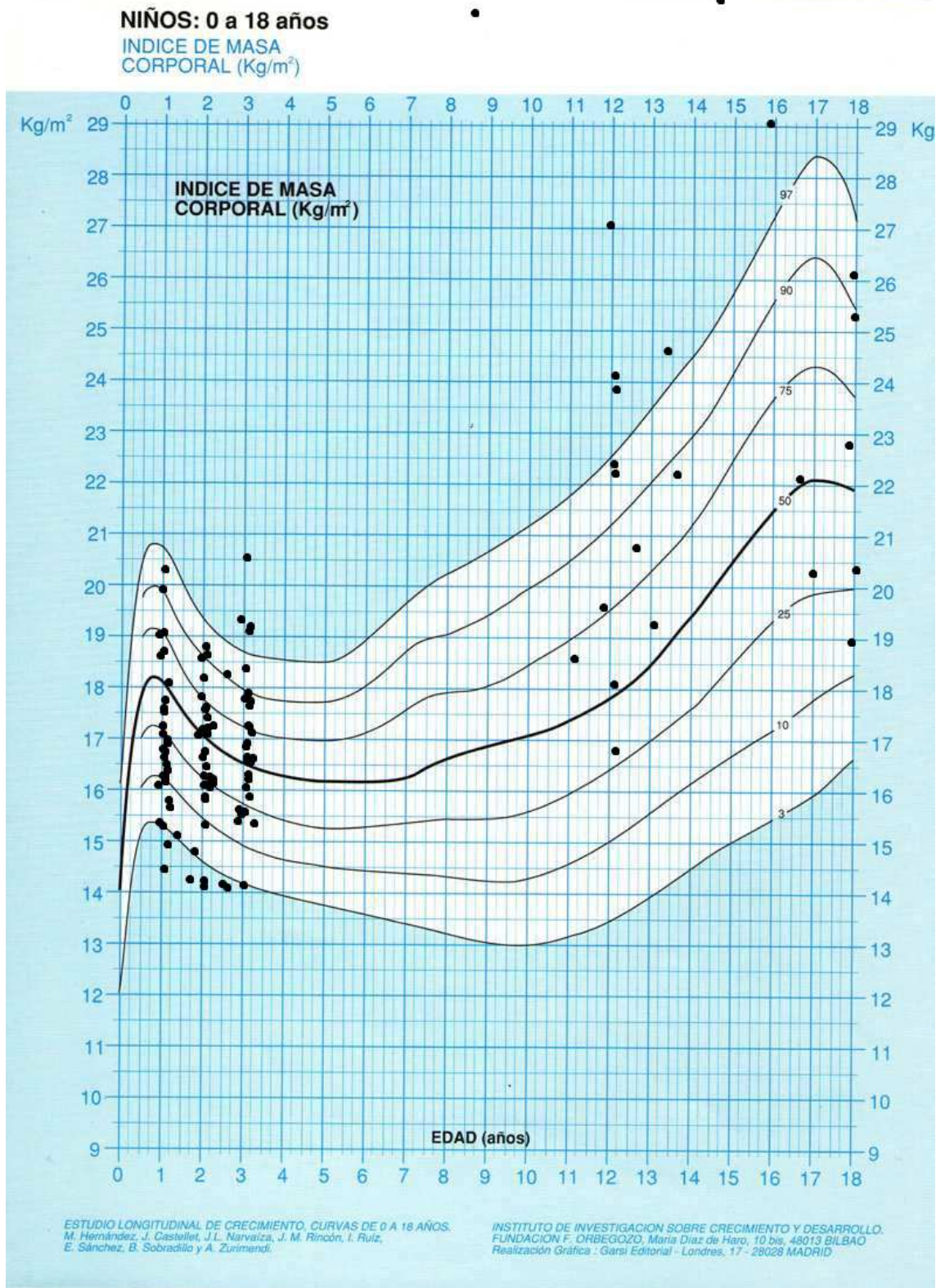


Figura 63. Cohorte de varones IMC (0-18 años).

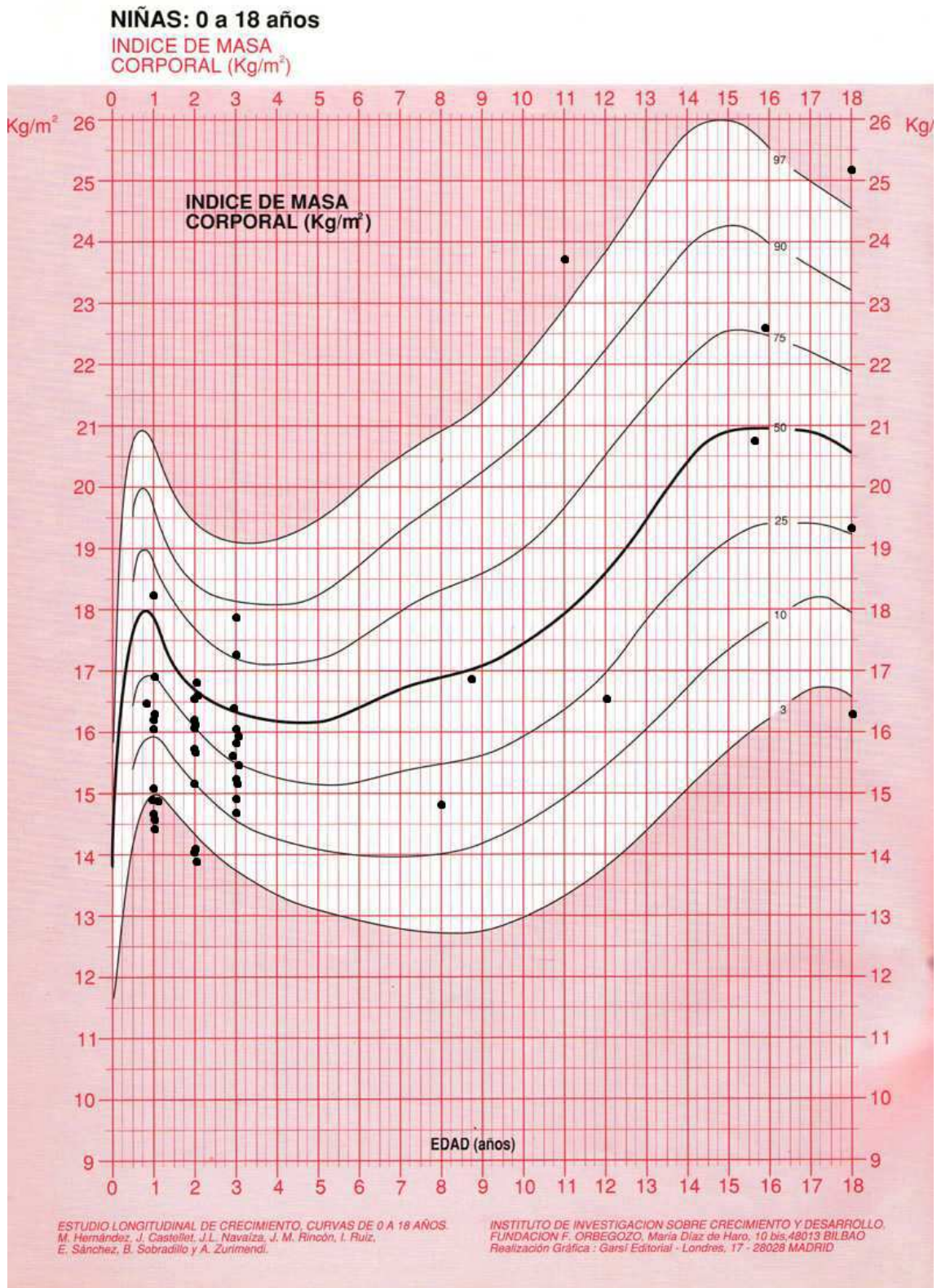


Figura 64. Cohorte de mujeres IMC (0-18 años).

5. DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

El Programa de Cribado Neonatal de 21OHD ha demostrado su capacidad para disminuir la morbi/mortalidad infantil. Los estudios publicados demuestran que el cribado permite detectar a tiempo a la mayor parte de los niños en riesgo, la consiguiente instauración de un tratamiento precoz y, en consecuencia la prevención de la aparición de la crisis de pérdida salina así como disminuir el tiempo de asignación incorrecta de sexo al nacimiento en las mujeres virilizadas.

Además de la detección precoz de las formas clásicas de 21OHD, los principales factores implicados en el pronóstico a largo plazo de la 21OHD están relacionados con el tratamiento glucocorticoideo y mineralcorticoideo utilizado, la edad de inicio del tratamiento, las dosis administradas al inicio del mismo, las dosis de mantenimiento administradas en la primera infancia, pubertad y edad adulta y la repercusión que estas dosis ejercen sobre el crecimiento.

En el presente trabajo he realizado el análisis de 49 pacientes afectos de formas clásicas de HSC por 21OHD en seguimiento en la Unidad de Endocrinología Infantil del Hospital Gregorio Marañón, analizando el tratamiento empleado y su repercusión sobre la auxología.

5.1. Descripción de los pacientes del estudio

5.1.1. Incidencia

La incidencia global de formas clásicas en la Comunidad de Madrid (1990-2015) es 1:19.211 recién nacidos. La prevalencia para el período citado es de 5,20 niños enfermos por cada 100.000 niños cribados. La incidencia de formas clásicas en la Comunidad Autónoma de Madrid es más elevada que la encontrada en otros lugares como Nueva Zelanda (1:21.270 nacimientos) pero inferior a otros como Estados Unidos (1:15.981 nacimientos). Diferentes estudios publicados en España, establecen una frecuencia de formas clásicas en España entre 1:10.000 y 1:14.000⁴⁹.

5.1.2. Sexo

El Programa de Cribado Neonatal de la Comunidad Autónoma de Madrid en el período de estudio detectó 83 pacientes con formas clásicas (45 varones y 38 mujeres) lo que supone una proporción varones:mujeres de 1,18:1, muy similar a la encontrada en la literatura.

Dado que la 21OHD es una enfermedad autosómica recesiva, lo esperable sería que la razón de sexo para esta enfermedad fuera 1:1. Si el diagnóstico fuese exclusivamente clínico no se encontraría esa proporción pues a través del diagnóstico clínico se detecta una mayor proporción de mujeres, lo que podría deberse al fallecimiento de varones por crisis de pérdida salina sin diagnosticar. Sin embargo, el cribado neonatal permite igualar, y en ocasiones invertir, esa razón de sexo.

En nuestra muestra la proporción de varones fue más del doble de la de mujeres 2,5:1. Esta diferencia probablemente se debe a que parte de las niñas (63%, n= 24/38) fueron seguidas en los Hospitales de origen donde estaban ingresadas por estudio de genitales ambiguos cuando recibieron el resultado del Cribado.

5.1.3. Cribado Neonatal

El Programa de Cribado Neonatal de 21OHD ha demostrado su capacidad para disminuir la morbi/mortalidad infantil. Numerosos estudios demuestran que el cribado de 21OHD permite acortar el tiempo de diagnóstico de la enfermedad, reducir el inicio del tratamiento del día 19 al 9 y presentar valores más altos de sodio y menores de potasio al diagnóstico^{194,195} evitando la crisis adrenal, acortar el tiempo de asignación incorrecta o incierta de sexo de 40 a 10 días^{80,196,197} y reducir los días de ingreso de 15 a 7^{194,195}.

La detección precoz de esta enfermedad se realiza en el marco de programas de cribado neonatal en múltiples países incluyendo muchos estados de Estados Unidos, Nueva Zelanda, Japón, Israel, Suecia, Suiza, Francia, Austria, y Holanda⁹⁰.

La Sociedad Europea de Endocrinología Pediátrica y la Sociedad Americana de Endocrinología Pediátrica (Lawson-Wilkins) establece que el cribado neonatal de 21OHD es recomendable con un grado de recomendación ++ y nivel de evidencia I^{87,198}. Estiman que este cribado es suficientemente específico y sensible para detectar los recién nacidos con la forma clásica de la enfermedad y algunos recién nacidos con la forma no clásica, por lo que consideran que el cribado es beneficioso y por tanto recomendado. Los análisis de coste

beneficio asumen que considerando que el retraso en el diagnóstico tiene como resultado la muerte del paciente, sobre todo en varones, el beneficio es máximo en años de vida ganados. La probabilidad de muerte a causa de una crisis adrenal en el periodo neonatal en ausencia de cribado es controvertida pero la mayoría de estudios establecen que entre 0-4% de los niños con pérdida salina por 21OHD morirían pese a nacer en centros sanitarios altamente cualificados⁹⁰.

En España solo en 6 Comunidades Autónomas se realiza cribado de esta enfermedad. Actualmente (2018) existen 5 Centros que realizan el cribado neonatal de 21OHD cubriendo el 29,5% de los recién nacidos. Estos centros están localizados en Zaragoza (da cobertura geográfica a Aragón y La Rioja), en Valladolid (da cobertura a Castilla y León), en Talavera (da cobertura a Castilla La Mancha), en Badajoz (da cobertura a Extremadura) y en Madrid (da cobertura a la Comunidad de Madrid). En Murcia se ofertó hasta el año 1997 y en el País Vasco dejó de realizarse en abril de 1995. La Asociación Española de Cribado Neonatal (AECNE) y la Asociación española para el estudio de los Errores Congénitos del Metabolismo (AECOM) llevan varios años mostrando la desigualdad en la oferta de servicios de cribado neonatal entre las distintas comunidades autónomas (CC. AA.) de España¹⁹⁹. Es posible que el carácter descentralizado de la planificación y gestión sanitaria, por un lado, y la ausencia de consenso nacional sobre los criterios que deberían regir el diseño y ejecución de este tipo de programas, por otro, hayan configurado una oferta de servicios de cribado de Errores Congénitos del Metabolismo heterogénea, que no siempre se justifica en base a criterios de necesidad, de efectividad ni de eficiencia²⁰⁰⁻²⁰². La homogeneización de los programas de cribado neonatales ofrecidos en las distintas comunidades autónomas de España es un reto aún por conseguir.

La exactitud diagnóstica del cribado en términos de sensibilidad, especificidad y valores predictivos es otra de las medidas de resultados clave a la hora de poner en marcha un programa de cribado neonatal. Los estudios publicados muestran una especificidad del 100% y una sensibilidad que oscila entre el 83 y el 97%. La especificidad de nuestro Programa de Cribado es del 99,55% y la sensibilidad es del 100% (1990-2015), no existen falsos negativos. Sin embargo, se ha observado una alta tasa de falsos positivos, especialmente entre los niños prematuros⁷⁵⁻⁷⁷, por lo que es imprescindible ajustar los puntos de corte de los niveles de 17-OHP de acuerdo a las semanas de gestación, peso y sexo del recién nacido^{63,77-82,84}, tal y como se hace en nuestro Programa de Cribado Neonatal.

El Programa de Cribado Neonatal de Suecia reveló 7 niños (4 mujeres y 3 varones) con resultado falso negativo²⁰³. Sin embargo, otros Programas de Cribado Neonatal de 21OHD no mostraron falsos negativos como en Nueva Zelanda y Holanda^{79,204}. Los pacientes con resultado falso negativo padecían formas virilizantes simples, ningún caso falso negativo con forma pierde sal ha sido descrito en la literatura.

El valor predictivo positivo, parámetro fundamental a la hora de evaluar un programa de cribado es extremadamente variable. Algunos ejemplos encontrados en la literatura son: 1% en Wisconsin²⁰⁵, 1.9% en Nueva Zelanda²⁰⁴, 2.3% en Emilia-Romagna (Italia)⁸⁰, 16% en Holanda⁷⁹ e incluso 50% en Suiza⁷⁸. El encontrado en nuestro Laboratorio de Cribado de la Comunidad de Madrid es 1,16%.

En al menos 45 estados de EEUU y la mayoría de los países Europeos, las técnicas de radioinmunoanálisis (RIA) y ELISA están siendo suplantadas por la técnica de inmunofluorescencia de tiempo retardado en un proceso automatizado (DELFLIA®)⁸⁷.

Existe una variación importante entre los puntos de corte que emplean los diferentes programas ya que las concentraciones de 17-OHP en los recién nacidos difieren según cuál sea el método de análisis empleado. En la literatura no existe acuerdo de cuál es el punto de corte para definir un resultado de la prueba de cribado como normal/anormal. En el documento de consenso de la European Society for Paediatric Endocrinology y la Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society se afirma que cada laboratorio de cribado debe establecer sus propios puntos de corte⁹¹. La elección del valor del punto de corte está determinado por la obtención de una relación óptima entre un mínimo de falsos positivos y un mínimo de falsos negativos²⁰⁶.

Los niveles de 17-OHP en los niños nacidos a término pueden alcanzar rangos similares a los de los niños afectados durante los dos o tres primeros días de vida. En los niños sanos los niveles se normalizan alrededor del tercer día, manteniéndose elevados en los niños enfermos. En niños prematuros y de bajo peso los niveles tardan más en normalizarse²⁰⁷⁻²¹⁰. En la literatura se describen ajustes de los puntos de corte en función de tres factores: fecha de recogida de la muestra respecto al nacimiento, edad gestacional y peso del recién nacido. Los laboratorios de EEUU emplean puntos de corte ajustados al peso al nacimiento. La especificidad del cribado parece ser mejor si se estratifica a los recién nacidos en función de la edad gestacional más que por el peso al nacimiento, pues la correlación de los niveles de 17-OHP es mayor con la edad gestacional⁶⁴. El valor predictivo positivo del

Programa de cribado de Holanda y de Suiza basado en la edad gestacional es mayor que el encontrado en otros programas de cribado^{78,79}.

Existen discrepancias en cuanto a la influencia de los corticoides administrados a la madre durante la gestación en los resultados analíticos de los recién nacidos²¹¹⁻²¹³. Otros factores como el tipo de alumbramiento o el estrés prenatal no parecen tener influencia, al menos en niños prematuros²¹¹. El tratamiento con espironolactona también parecen influir en los niveles de 17-OHP según describe Terai y colaboradores²¹⁴.

El Programa de Detección Precoz de la Comunidad de Madrid establece distintos puntos de corte de acuerdo a las semanas de gestación y peso al nacimiento. El punto de corte para recién nacidos a término es de 15 nmol/L en sangre completa que equivale al percentil 99 según edad gestacional. Un resultado positivo debe ser confirmado por una medida válida de 17-OHP de una segunda muestra de suero.

En algunos programas se repite la prueba de cribado, antes de la prueba de confirmación, en todos aquellos casos en los que se observen resultados anormales^{207,210,211,215,216}. En otros se repite la prueba tan solo en casos borderline, efectuándose ya el análisis de confirmación en los niños con resultados claramente elevados. Si el objetivo del programa es la detección precoz de los niños susceptibles de presentar una crisis de pérdida salina, es efectivo un cribado con toma de muestra única. En cambio, si lo que se pretende es la detección de los niños con virilización simple u otras manifestaciones de la enfermedad, es necesaria una segunda recogida de la muestra.

Coulm et al, concluyen que el cribado neonatal de 21OHD es útil en recién nacidos a término mientras que en pretérminos ingresados en unidades de cuidados intensivos neonatales que reconozcan precozmente los signos de pérdida salina, podría ser suprimido al considerar el bajo valor predictivo de la prueba en este grupo poblacional⁷⁶.

Uno de los principales problemas de casi todos los Programas de Cribado Neonatal de 21OHD es el valor predictivo bajo de la prueba debido a una gran cantidad de falsos positivos²¹⁷. La aparición de resultados falsos positivos es atribuible a retraso en la maduración fisiológica debido a la 11 β -hidroxilasa deficiencia, función renal deficiente y elevación de 17-OHP debido a cualquier enfermedad y el estrés^{211,218}. Además, la falta de especificidad de anticuerpos y reactividad cruzada con otros esteroides dificulta el valor diagnóstico del inmunoensayo²¹⁹. Esta limitación del cribado de 21OHD crea una carga

significativa en los programas de seguimiento y estrés en las familias ya que recién nacidos sanos deben ser sometidos a una evaluación médica.

Para solventar este problema de los Programas de Cribado Neonatal de 21OHD, las Sociedades Europeas y Americanas de Endocrinología Pediátrica proponen realizar pruebas de cribado de segundo nivel como medición de 17-OHP en una segunda muestra de sangre/plasma analizada mediante cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem, estudio genético molecular de CYP21⁹¹ y medición de esteroides en orina.

La cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem (LC-MS / MS) ha demostrado que aumenta significativamente el valor predictivo positivo de la prueba pues permite la medición simultánea de varios esteroides. Ninguno de los programas analizados utiliza la espectrometría de masas en tándem pese a que su uso mejoraría el valor predictivo del screening^{63,84}. La Guías clínicas de la Sociedad de Endocrinología recomiendan el tándem masas pero su coste elevado, hace que no esté disponible en la mayoría de los programas de cribado de 21OHD⁸⁷. La técnica de espectrometría de tándem masas es más exacta por dos factores: por un lado mejora la especificidad de la técnica de inmunoanálisis permitiendo bajar el punto de corte a 12,5 ng/ml, eliminando de esta forma el 84% de los falsos positivos encontrados por inmunoanálisis y por otro lado permite detectar además de la 17-OHP, las concentraciones de cortisol y androstendiona, metabolitos cuyos niveles también se encuentran alterados en pacientes afectados de 21OHD²²⁰. Esta técnica ha demostrado mejorar el valor predictivo positivo de los Programas de Detección de Minnesota de 0,8 a 7,6%²²¹ y de Utah de 0,4 a 9,3%²²². Tras un primer test de cribado positivo, si el ratio de la suma de los niveles de 17-OHP y 21-deoxicortisol dividido por el nivel de cortisol supera 0,53, el valor predictivo de la prueba alcanza el 100%⁶³.

El estudio genético molecular podría ser otra prueba utilizada como segundo nivel que mejoraría el valor predictivo positivo del cribado. Este estudio se podría realizar a partir de la muestra de sangre seca extraída para la detección hormonal de primer nivel. Más del 90% de los alelos mutados, tienen una de las 10 mutaciones más frecuentes (deleciones o conversiones del gen), por lo que pacientes que no porten ninguna de estas mutaciones es poco probable que sean afectados. Sin embargo, el estudio genético es más costoso que el tándem masas y además está centrado en un solo gen CYP21A2, por lo que no será útil para diagnosticar otras deficiencias enzimáticas que causan HSC, como se puede hacer con el tándem masas.

5.2. Situación clínica al diagnóstico

5.2.1. Características neonatales

La antropometría y edad gestacional de nuestros pacientes no difiere de la encontrada en la población española. El Z-score del peso y la longitud fue próximo a 0 respecto a población española y la edad gestacional en torno a las 40 semanas.

Algunos autores no encuentran diferencias entre la talla al nacimiento y la media poblacional²²³, sin embargo en otras cohortes como la Italiana y la Finlandesa observan longitudes al nacimiento mayores en los pacientes afectos de formas clásicas respecto a la media poblacional^{224,225} que relacionan con el hiperandrogenismo fetal no tratado durante la gestación, hecho no constatado en nuestro estudio.

5.2.2. Antecedentes familiares

De los 49 pacientes estudiados, sólo el 8,1% (n= 4) tenían un familiar afecto de una forma clásica de 21OHD y en todos los casos eran hermanos. Ningún paciente tenía padres enfermos y en el 91,3% (n=42) los padres no referían haber presentado problemas de fertilidad. Existen antecedentes de consanguinidad en el 12,2% (n=6) de nuestra muestra. El 4,3% de las familias (n=2) había tenido hijos previos fallecidos en los primeros meses de vida. Ambos fallecimientos ocurrieron en lugares sin cribado neonatal de 21OHD, por lo que es posible que se tratase de niños afectos de forma pierde sal.

5.2.3. Forma clínica

En cuanto a la frecuencia de las formas clínicas, los resultados son similares a los encontrados en otras series: mayor frecuencia de formas pierde sal (n=39, 79,6%) frente a formas virilizantes simples (n=10, 20,4%).

5.2.4. Modo de diagnóstico

El 93,9% (n= 46) de los pacientes se diagnosticaron mediante Programa de Cribado Neonatal (78,2% formas pierde sal y 21,8% formas virilizantes simples). En el 6,1% (n= 3) de los pacientes el diagnóstico fue clínico (en un paciente por nacer en Madrid antes de la implantación del cribado y en dos por nacer en lugares sin cribado neonatal).

5.2.5. Edad al diagnóstico

Un aspecto clave de nuestro estudio es la posibilidad de disponer de los resultados de la prueba de cribado a tiempo de prevenir la aparición de la crisis de pérdida salina, que se presenta generalmente entre la 2ª y 3ª semana de vida.

La edad al diagnóstico de los pacientes diagnosticados por cribado de nuestra muestra (8,5 días; 6,0 – 10,5) permite el diagnóstico precoz y con ello la instauración del tratamiento a tiempo para evitar la crisis de pérdida salina, ajustándose al objetivo fundamental de un programa de cribado neonatal sobre su capacidad de disminuir la morbi/mortalidad.

El 38,89% de los pacientes afectos de forma pierde sal se diagnosticó en la primera semana de vida y el 58,83% en la segunda semana de vida. El único paciente afecto de forma pierde sal diagnosticado mediante Cribado Neonatal más allá de los 15 días de vida, fue un varón cuyo diagnóstico se hizo a los 24 días de vida.

El 30% de los pacientes afectos de forma virilizante simple se diagnosticaron en los primeros 15 días de vida (20% en la primera semana y 10% en la segunda). El 40% se diagnosticó entre los 16 y 30 días de vida y el 30% más allá del mes de vida. El diagnóstico es más tardío en las formas virilizante simples por requerir varias determinaciones de 17-OHP para llegar a la confirmación del diagnóstico.

En los estudios publicados en la literatura se encuentra una gran variabilidad en cuanto a la edad de los niños en el momento del diagnóstico definitivo de la forma clásica de la enfermedad (téngase en cuenta que unos autores presentan el dato en medias y otros en medianas). La edad de diagnóstico oscila entre los 6 días y alrededor de un mes. El estudio de Chu et al (Taiwan)²¹⁵, establece una edad media en el momento del diagnóstico por cribado de 11,6 días (4-20) y edad media en el momento del diagnóstico definitivo de 14,8 días (5-31). Steigert et al (Suiza)⁷⁸, describen una edad media de inicio del tratamiento de 6,7 días (1-22) en niños diagnosticado por cribado. Gruñeiro-Papendieck et al (Argentina)²⁰⁸ sitúa la edad media al diagnóstico en 6 días, Van der Kamp et al (Holanda)⁷⁹ reporta una edad media de instauración del tratamiento en áreas con cribado de 21OHD a los 7 días de vida (1-31) y en áreas sin cribado de 21OHD a los 14 días de vida (0-115). Brosnan et al (Arkansas, Oklahoma y Texas, EEUU)²²⁶ describen una edad media al diagnóstico por cribado en varones con pérdida salina de 12 días en áreas de cribado y 26 días en áreas sin cribado. La edad al diagnóstico por cribado en el estudio de Cartigny-Maciejewski et al (Lille, Francia)⁷² fue a los 18 días de media (5-90) y 9 días de mediana. La edad mediana en el momento del

diagnóstico por cribado reportada por Therrell et al en Texas⁷⁷ fue para niños con forma pérdida salina 11 días (0-40) y para niños con forma virilizante simple 34 días (0-111). En Suecia, Thilén et al²⁰³ establecen una edad mediana al diagnóstico de 9 días en áreas con cribado y 21 días en áreas sin cribado y en Emilia-Romagna (Italia), Balsamo et al⁸⁰, reportan una edad mediana al diagnóstico por cribado de 20 días (12-150) en el período comprendido entre los años 1980 y 1983 y de 11 días (5-35) en el período comprendido entre 1991 y 1995. En Israel, Sack et al²²⁷ reportaron una edad de inicio de tratamiento antes del mes de vida en áreas con cribado y en Wisconsin, Allen et al²¹⁰, revelan que los resultados del cribado se obtuvieron entre el 5º y 9º día de vida.

En España, la edad media de diagnóstico reportada por los 5 Centros de Detección que realizan cribado de 21OHD es 10,9 días (percentil 5: 7,3-percentil 99: 15,9)⁷¹, superior a la encontrada en nuestra muestra (8,5 días; 6,0-10,5).

i. Sospecha clínica previa al resultado del cribado y motivo de sospecha

No existía ninguna sospecha clínica de enfermedad en el 76,1% (n=35) de los pacientes diagnosticados mediante cribado neonatal, este dato supera a los 47% descritos por Thilén²⁰³ y el 73% del estudio de Therrell⁴⁴.

De los pacientes sin sospecha clínica de ninguna enfermedad, el 80% (n=28) eran formas pierde sal con potencial riesgo de muerte por crisis adrenal. Entre las 28 formas pierde sal sin sospecha de enfermedad, 24 eran varones y 4 eran mujeres. En 3 de estas 4 mujeres se había realizado además asignación incorrecta de sexo al nacimiento. El 20% (n=7) restante eran formas virilizante simple cuyo beneficio ha sido el diagnóstico precoz, acortar el tiempo de estudio de la niña con virilización de los genitales (diagnóstico a los 18 días de vida) y la prevención de la pseudopubertad precoz.

Se sospechó la enfermedad en el 23,9% (n=11) de los pacientes. El motivo de sospecha fue los genitales ambiguos en las mujeres (5 afectas de formas pérdida salina y 2 de virilizante simple) seguido por los antecedentes familiares en 4 casos (1 varón con forma virilizante simple, 2 mujeres pérdida salina y 1 varón pérdida salina). Por tanto, tal y como describe Therrell et al, los casos detectados antes de conocer los resultados del cribado fue debido a afectación de un hermano o a determinados signos de virilización en las niñas⁷⁷.

Teniendo en cuenta estos resultados, podemos decir que de los 46 pacientes afectos de 21OHD, 28 (60,8%) afectos de forma pérdida salina con riesgo de mortalidad por crisis adrenal, habrían obtenido un beneficio absoluto del Cribado. En el estudio retrospectivo

elaborado por Steigert et al, encuentra que de los 31 pacientes con 21OHD confirmada, 15 de ellos (48,4%) serían los realmente beneficiados con el cribado, puesto que en ellos, el diagnóstico no había sido sospechado por la clínica. Además habrían obtenido beneficios relativos, las 6 mujeres con asignación incorrecta de sexo al nacimiento, los 7 pacientes afectos de forma virilizante simple sin sospecha clínica de enfermedad. También se habrían beneficiado los pacientes en estudio por sospecha clínica de alguna enfermedad pues gracias al Cribado se acortó el tiempo hasta alcanzar el diagnóstico definitivo.

Las niñas recién nacidas con 21OHD se reconocen más precozmente debido a su ambigüedad genital. El examen clínico permite sospechar, previo al resultado del cribado, las formas clásicas de la enfermedad en algunas mujeres con genitales ambiguos, en consecuencia la utilización conjunta del examen clínico y la prueba de cribado es una estrategia de gran utilidad para mejorar el diagnóstico precoz de la enfermedad. Los varones con pérdida salina serían los más beneficiados por este cribado pues no presentan signos clínicos que alerten de la enfermedad antes de la pérdida salina.

De los posibles beneficios del cribado, no existe suficiente información publicada para cuantificar su impacto en la morbilidad de los pacientes^{79,90}. No obstante, varios estudios presentan datos que reflejan una reducción en la mortalidad entre los afectos de la forma pérdida salina^{79,203,226}. La reducción de tiempo hasta una correcta asignación de sexo en niñas gravemente virilizadas, presentan dificultades metodológicas para ser cuantificada, ya que existe un alto grado de incertidumbre en torno a cómo medir el impacto en la calidad de vida de los propios pacientes o de sus padres. En ausencia de cribado, existe un porcentaje de casos con la forma pérdida salina que fallecerían sin ser nunca diagnosticados^{182,228}. Si bien es cierto que, en un amplio estudio realizado en Zürich²²⁹, sobre necropsias de recién nacidos fallecidos por causas diversas y sin diagnóstico claro, no se encontró ningún caso de 21OHD.

ii. Resultado de Cribado Neonatal respecto al inicio de la crisis de pérdida salina

En el 88,8% de los pacientes afectos por pérdida salina de nuestro estudio el resultado del cribado se obtuvo antes de comenzar los síntomas de pérdida salina y en un 11,1% los resultados se obtuvieron coincidiendo con el inicio de la poliuria. Por tanto en el 99,9% de los niños la detección precoz de la enfermedad ha evitado la deshidratación grave, el daño cerebral por hiponatremia severa y la letalidad debida a crisis de pérdida de sal.

En el trabajo elaborado por Steigert et al, 5 de los 31 pacientes con 21OHD confirmada, presentaban datos de depleción salina en la analítica y mediante el cribado se

pudo iniciar el tratamiento farmacológico precozmente, por lo que se evitó la aparición de crisis de pérdida salina severas. En los estudios que analizan este aspecto se observa que el cribado consigue detectar a tiempo a la mayor parte de los niños a riesgo, la consiguiente instauración de un tratamiento precoz y, en consecuencia, la prevención de la aparición de crisis^{77-79,203,208,215,227}.

iii. Lugar donde estaba el paciente al recibir el resultado del Cribado Neonatal y motivos de hospitalización

En la literatura no existen estudios que analicen este aspecto. En este trabajo el 65% (n=30) estaban en sus domicilio sin sospecha de enfermedad y el 11% (n=5) estaban en sus domicilios pendientes de completar estudio por sospecha clínica de alguna enfermedad (genitales ambiguos, criptorquidia) o por sospecha de 21OHD por familiar previo afecto. El 24% (n=11) estaban ingresados en el hospital: 9 pacientes por motivos diferentes a 21OHD y 2 pacientes por sospecha de 21OHD por tener familiar previo afecto.

Es importante destacar que el 69,4% de los pacientes (n=25/36) con forma pierde sal identificados mediante cribado neonatal estaban en sus domicilios con potencial riesgo de muerte y que 6 mujeres habían sido etiquetadas incorrectamente como varones al nacimiento (1 estaba hospitalizada por genitales ambiguos, 2 estaban en sus domicilios pendientes de completar estudio por hipospadias y 3 estaban en sus domicilios como varones sanos sin ningún tipo de sospecha clínica).

Valores de 17-OHP en papel absorbente procedentes del Cribado Neonatal

Los valores de 17-OHP en papel absorbente procedentes de la prueba de cribado fueron significativamente más elevados en el grupo de pérdida salina que en el de virilizante simple.

La elevación se objetiva desde la primera muestra de sangre capilar en la forma pérdida salina mientras que en la forma virilizante simple a veces es necesario repetir la prueba para confirmar la progresión de los niveles elevados de 17-OHP.

Estos datos concuerdan con las recomendaciones de algunos autores que destacan la importancia de una segunda prueba de cribado debido a que una única prueba no diagnosticaría a los niños con 21OHD cuyos niveles de 17-OHP se eleven lentamente durante el primer mes de vida (forma virilizante simple)⁷¹.

5.2.6. Clínica

Los síntomas que presentaban los pacientes en la primera exploración física que se les realizó al obtener el resultado del cribado fueron: 75% (n=33) hiperpigmentación, 33,3 % (n=15) de los pacientes con pérdida salina signos incipientes de deshidratación y en el 85% (n=12) de los niñas virilización de los genitales (las 2 niñas no virilizadas habían recibido tratamiento prenatal con dexametasona). En el 43% (n=6) de las mujeres se había realizado una asignación incorrecta de sexo al nacimiento.

5.2.7. Actitud al diagnóstico

Todos los pacientes con forma pierde sal fueron ingresados. En la forma virilizante simple el 44,4% precisó ingreso en Neonatología (para realizar el diagnóstico diferencia con la forma pierde sal o por ambigüedad genital en las mujeres) mientras que el 55,6% fue seguido de forma estrecha en consultas de endocrinología pediátrica.

Brosnan et al^{89,226} mostraron diferencias en los días de hospitalización debidos a las crisis salinas entre los neonatos detectados mediante cribado y detectados mediante la práctica clínica habitual. En nuestro estudio no se ha podido analizar este aspecto ya que los pacientes han sido diagnosticados mediante cribado, pero si se ha objetivado una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a los días de ingreso al diagnóstico mayor en la forma pérdida salina (13,86 días), que representa la forma más grave de la enfermedad respecto a la forma virilizante simple (2,75 días).

5.2.8. Variables analíticas al diagnóstico

i. Glucemia, equilibrio ácido base e iones

Los recién nacidos con pérdida salina al diagnóstico presentaron hiponatremia (Na^+ : 128,0 nmol/L) e hiperpotasemia leve (k^+ : 6,5 nmol/L). Todos los pacientes con pérdida salina se diagnosticaron antes de presentar datos analíticos de hipoglucemia, acidosis metabólica (pH: 7,37) o síntomas clínicos evidentes de pérdida salina.

En estudios realizados en Suiza y Holanda encuentran valores medios de sodio al diagnóstico de 134 nmol/L en áreas con cribado neonatal y 124 nmol/L en áreas sin cribado^{79,203}.

5.2.9. Tratamiento

i. Tratamiento inicial

a) Hidrocortisona:

Tal y como recomiendan las guías actuales de manejo de 21OHD, el glucocorticoide empleado en todos nuestros pacientes fue hidrocortisona repartida en 3-4 dosis al día, con administración por vía intravenosa u oral según la situación clínica del paciente^{66,87}.

La dosis inicial de hidrocortisona recibida por nuestros pacientes con pérdida salina (340; 142,4 – 444,3 mg/m²/día) es una dosis alta, que cumple las últimas recomendaciones de las guías de diagnóstico y tratamiento que promueven el empleo de dosis iniciales altas que permitan sustituir rápidamente los niveles de hormonas adrenales para evitar el desarrollo de una crisis adrenal^{66,87}. Son necesarias dosis iniciales altas de hidrocortisona ya que el diagnóstico suele ser próximo al comienzo de la pérdida salina. En los casos de inicio más precoz suelen emplearse dosis menores a 100 mg/m²/día. Las guías Japonesas de tratamiento previas recomendaban dosis iniciales altas de hidrocortisona (100-200 mg/m²/día)²³⁰, las actuales entre 25-100 mg/m²/día⁶⁶ salvo que el comienzo de la crisis esté próximo, en cuyo caso recomiendan dosis de inicio 100 mg/m²/día tras un bolo inicial de hidrocortisona. Las guías Europeas y Americanas promulgan dosis iniciales superiores a 25 mg/m²/día^{87,198}. Cuando se utilizan dosis iniciales bajas (25 mg/m²/día) los niveles de 17-OHP se mantienen altos hasta los 3 meses de vida en las niñas y 6 meses en los niños, lo que sugiere que esas dosis no frenan suficientemente el hiperandrogenismo²²³ y además obligan a emplear dosis elevadas de mineralcorticoide. Dosis elevadas de hidrocortisona tienen efecto mineralcorticoide lo que permite utilizar dosis menores de mineralcorticoide y evitar los posibles efectos secundarios HTA y edemas.

El grupo de pacientes con las formas más graves de la enfermedad (forma pierde sal) recibió dosis más altas (340; 142,4 – 444,3 mg/m²/día) que los pacientes con la forma virilizante simple (57,2; 14,3- 271,3 mg/m²/día). Estas dosis tan elevadas se disminuyen rápidamente en los primeros días de vida.

La edad de instauración del tratamiento coincide con la edad del diagnóstico en la forma pierde sal (8,0; 6,0 – 9,0 días) mientras que es más tardía en la forma virilizante simple (26,0; 22,0 – 64,0 días). En el primer grupo de pacientes, el objetivo prioritario del tratamiento es evitar la morbi/mortalidad derivada de la crisis de pérdida salina que puede comprometer la vida del paciente mientras que en el segundo grupo, el inicio del tratamiento

se demora pues el principal beneficio del tratamiento es la prevención de la pseudopubertad precoz y de la talla baja así como evitar el hiperandrogenismo en las niñas. En la forma virilizante simple en ocasiones es necesario realizar varias determinaciones de 17-OHP así como valorar la evolución clínica del paciente para llegar a la confirmación del diagnóstico. El estudio genético en este caso es de gran utilidad.

Los pacientes con forma pierde sal, la forma más grave de la enfermedad, presentaron niveles de 17-OHP en sangre completa más elevados al diagnóstico, se diagnosticaron antes, se instauró el tratamiento desde el momento del diagnóstico y se emplearon dosis iniciales de hidrocortisona más altas.

b) 9 α fluorhidrocortisona:

Tal y como recomiendan las guías clínicas todos los pacientes con pérdida salina recibieron tratamiento con 9 α fluorhidrocortisona y suplementos de sodio en el periodo neonatal y primera infancia⁸⁷. La hidrocortisona a dosis altas también tiene efecto mineralcorticoide (100 mg de hidrocortisona tiene un efecto mineralcorticoideo equivalente a 0,1 mg de fludrocortisona) por lo que el mineralcorticoide se inicia cuando se disminuyen las dosis de hidrocortisona.

Aunque el déficit de aldosterona es clínicamente evidente en la forma pierde sal solamente, existe un déficit subclínico de aldosterona en algunas formas virilizantes simples por 21OHD que puede ser verificado mediante la evaluación de la actividad de renina plasmática²³¹⁻²³³. El déficit de aldosterona en estos pacientes causa depleción crónica de sodio que se refleja en el aumento de la actividad de renina plasmática. En nuestra serie la determinación de aldosterona no ha tenido ninguna utilidad debido a la interferencia de otros metabolitos en la técnica analítica empleada para su determinación. El defecto mineralcorticoide se evidencia por la elevación de la ARP. Algunos pacientes con forma virilizante simple y elevación de la ARP también precisan tratamiento con 9 α fluorhidrocortisona. Un adecuado equilibrio del sodio, facilita el descenso en los niveles de vasopresina y ACTH, reduciendo de esta forma las dosis de hidrocortisona necesarias y mejorando la talla adulta²³⁴⁻²³⁶. Este déficit subclínico puede ser enmascarado por el uso de dosis altas de hidrocortisona y requiere que se monitorice regularmente.

En la forma pérdida salina se emplearon dosis de 9 α fluorhidrocortisona mayores (0,075; 0,050-1,000 mg/día) y se inició antes (9,0; 7,0-11,0 días) el tratamiento que en la

forma virilizante simple (0,068; 0,030-0,000 mg/día y 16,5; 9,0-20,0 días, respectivamente). En todos los casos se administraron estas dosis repartidas en dos tomas al día.

Las dosis de 9 α fluorhidrocortisona debe ajustarse en función de la actividad de renina plasmática, los niveles de electrolitos (sodio y potasio), tensión arterial y ganancia de peso. Como efectos adversos pueden producir un incremento de la tensión arterial y edema, al aumentar la reabsorción tubular de sodio y disminuir la de potasio. En este estudio 2 pacientes presentaron HTA, no se han encontrado otros efectos adversos. Si las dosis de glucocorticoides son altas (100 mg/m²/día), el defecto de mineralcortides no aparecerá hasta que estas se reduzcan, precisando entonces comenzar con la terapia de mantenimiento de 9 α fluorhidrocortisona²³⁰.

Las dosis de 9 α fluorhidrocortisona utilizadas en nuestros pacientes son inferiores a las encontradas en algunos estudios publicados en la literatura que defienden el empleo de dosis iniciales bajas de hidrocortisona (10-20 mg/m²/día) y altas de 9 α fluorhidrocortisona. Las últimas recomendaciones de las guías elaboradas sobre diagnóstico y tratamiento de 21OHD recomiendan emplear dosis iniciales y de mantenimiento de 9 α fluorhidrocortisona entre 0,025-0,2 mg/día repartidas en 2-3 tomas al día⁶⁶.

c) Cloruro sódico:

En las formas con pérdida salina, se normaliza la natremia inicialmente con aportes de sodio intravenoso. El tratamiento con suplementos de sodio orales se instaura cuando el paciente presenta normalidad hidroelectrolítica y de la tensión arterial y ha iniciado la ganancia ponderal. En nuestro estudio el tratamiento con aportes orales de cloruro sódico se inició a los 10,5 días (9,0-13,0). Las dosis iniciales de suplementos de sodio (ClNa 20%) oral empleadas en la forma pierde sal fueron 4,1 mEq/kg/día (4,0-5,2) repartidas en las tomas de lactancia. Las guías de manejo recomiendan la administración de suplementos de sodio en la alimentación del lactante alimentado con lactancia materna o con formula de inicio²³⁷.

El mantenimiento del balance de sodio reduce los niveles de vasopresina y ACTH y contribuye a disminuir la dosis de hidrocortisona requerida, alcanzando mejores resultados de talla^{87,234,235}.

ii. Tratamiento de mantenimiento

Todos nuestros pacientes recibieron como terapia de mantenimiento hidrocortisona repartida en tres dosis tal y como avalan los protocolos actuales de manejo de 21OHD. La mayoría de estudios recomiendan evitar la prednisona, prednisolona y la dexametasona en el

tratamiento de niños con 21OHD por sus efectos negativos sobre el crecimiento^{32,238}. La prednisolona y dexametasona producen un efecto supresor sobre el crecimiento que es 15 veces²³⁹ y 70-80 veces²⁴⁰ mayor que el causado por la hidrocortisona respectivamente.

Todas las guías recomiendan que las dosis altas iniciales de hidrocortisona se deben reducir rápidamente hasta alcanzar dosis de mantenimiento que permitan una adecuada sustitución de los glucocorticoides, normalizar la ACTH y controlar el hiperandrogenismo sin afectar al crecimiento fisiológico. La dosis de mantenimiento deben alcanzarse entre la tercera y cuarta semana de vida⁶⁶.

Actualmente, se recomienda iniciar el tratamiento con una dosis media de 15 mg/m²/día, y esta dosis se puede elevar a 20 mg/m²/día en el primer mes de vida y en el período puberal. Otros autores, como por ejemplo los de la escuela de Lyon promueven administrar dosis elevadas de hidrocortisona durante los 2 primeros años de vida: 50 mg/m²/día hasta el día 15, 25 mg/m²/día desde el día 15 al día 30 y posteriormente ir ajustando según parámetros clínicos y bioquímicos²⁴¹. Esta actitud no ha sido aceptada por la mayoría de los autores²⁴².

En nuestro estudio las dosis de mantenimiento de hidrocortisona (20-25 mg/m²/día) se alcanzaron en la forma pérdida salina a los 60,8 días (45,6-91,2) y en la virilizante simple a los 42,4 días (36,4-91,2), sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. Las dosis de hidrocortisona y fludrocortisona son ajustadas por la superficie corporal en cada revisión de acuerdo a criterios clínicos (estado general y auxología) y hormonales.

Existen controversias sobre cuál es la dosis efectiva a utilizar en las distintas etapas de la infancia, para conseguir un adecuado control del hiperandrogenismo sin afectar el crecimiento fisiológico. Durante la pubertad se producen modificaciones en la farmacocinética de la hidrocortisona como aumento del volumen de distribución y del aclaramiento, sin una alteración concomitante de la vida media, que deben ser tenidas en cuenta.

Todas las guías coinciden en que las dosis de hidrocortisona a usar durante la terapia de mantenimiento en niños están entre 10-15 mg/m²/día repartida 3 veces al día. En nuestro estudio se han empleado dosis algo más elevadas de hidrocortisona sin encontrar efectos secundarios ni repercusión sobre la talla como se detallará más adelante.

Se han recomendado distintas pautas de tratamiento: tres dosis iguales cada 8 horas, 2 ó 3 dosis con una mayor por la mañana o por la noche. Miller et al¹¹⁶ recomiendan

administrar la mitad o los dos tercios de la dosis por la noche al acostarse, con el fin de disminuir el pico de secreción del ACTH que se observa normalmente a las 2-4 horas de la madrugada; sin embargo, no es seguro que los resultados a largo plazo sean mejores.

En cualquier caso, la dosis necesaria para un tratamiento óptimo para cada paciente es muy variable, y se ve influida por varios factores, como la variabilidad clínica, el genotipo, el diferente grado de severidad en el defecto enzimático, además de factores relacionados con el metabolismo y la farmacocinética de la hidrocortisona, la absorción intestinal. La acidez gástrica destruye parcialmente la hidrocortisona y por ello la dosis administrada debe superar la producción endógena de cortisol. Además existen otros factores desconocidos de cada paciente, por lo que siempre es necesario individualizar la dosis^{243,244}. Algunos niños necesitan dosis mayores de glucocorticoides por sobreproducción androgénica a través de una vía alternativa “puerta de atrás” o “backdoor pathway”.

5.2.10. Genética

En todos los pacientes se realizó estudio genético molecular al diagnóstico. En el 100% de nuestros pacientes se encontró la alteración genética en ambos alelos. El tipo de alteración más frecuente encontrada en nuestra muestra son las deleciones/conversiones y la mutación puntual más frecuente ha sido *c.293-13C>G*.

La correlación genotipo/fenotipo es alta, sin embargo no siempre se puede establecer una correlación perfecta¹¹⁴. En nuestra muestra, existe buena correlación genotipo-fenotipo salvo en 3 pacientes en los que el fenotipo esperado en base al genotipo (mutación grave en un alelo y leve en el otro) correspondería a una forma no clásica pero el comportamiento clínico es de forma virilizante simple. Se han descrito diferentes hipótesis para argumentar esta discordancia. Algunas mutaciones se han asociado a más de un fenotipo, es posible la existencia de mutaciones dentro del gen CYP21B no detectadas y que pueden afectar a la actividad enzimática. Igualmente se debe considerar que otros factores, ambientales o génicos, independientes de la actividad enzimática de la 21OH, pueden modificar la presentación clínica. De hecho, hermanos genotípicamente idénticos para una mutación grave tienen diferentes grados de pérdida salina. Además variaciones genéticas en la síntesis y sensibilidad de los andrógenos podrían influir la expresión clínica del hiperandrogenismo.

En nuestra muestra existen 2 pacientes con mutaciones nuevas, no descritas previamente en la literatura:

- p.Val282Leu; c.292+5G>A, encontrada en el paciente 43. Esta mutación corresponde a un fenotipo grave de pérdida salina. La asociación entre la mutación c.292+5G>A y la p.Val282Leu, es una asociación poco frecuente que ha de ser tenida en cuenta en el caso de encontrar la mutación frecuente c.292+5G>A¹⁹³.
- c.862.G>C (p.Asp287His), encontrada en el paciente 25. Se asocia con un fenotipo virilizante simple.

5.3. Valoración durante el seguimiento

5.3.1. Valoración durante los tres primeros años de vida

5.3.1.a. Valoración del peso e IMC

Existen trabajos que indican que los niños con 21OHD tienen mayor tendencia a la obesidad ya que comienzan a ganar peso precozmente durante la infancia.

En nuestra muestra, el Z score del IMC a los 12 meses de edad es $-0,59 \pm 1,13$, a los 24 meses es $0,00 \pm 1,09$ y a los 36 meses $0,64 \pm 1,32$, por tanto aunque el IMC aumenta con la edad, los pacientes no presentaron sobrepeso ni obesidad, salvo en el 6,12% de la muestra (4 varones) con IMC >2 DS a los 3 años. Las dosis de hidrocortisona medias a los 36 meses en estos pacientes fueron 9,09; 20,28; 14,08 y 14,28 mg/m²/día respectivamente. Estos 4 pacientes obesos no presentaron talla baja, su Z-score a los 36 meses fue -1,43 DE, -0,83 DE, -0,13 DE y -0,21 DE respectivamente.

Según algunos autores, los niños con 21OHD presenta un IMC más elevado que la población general en relación con un incremento de la masa grasa²⁴⁵. Diversos estudios muestran que aproximadamente el 50% de los niños asocian sobrepeso y entre 16-25% obesidad^{146,245,246}. En un estudio realizado en 194 niños con 21OHD entre 1970 y 2013, encontraron que el 50% presentaban un IMC \geq percentil 95 y sobre un 70% \geq percentil 85. Cornean et, observa que los pacientes con 21OHD tratados con unas dosis óptimas de hidrocortisona (15-25 mg/m²/día) presentan un rebote de adiposidad precoz a los 1,7 años en comparación con la población normal, que lo presenta a los 5,5 años, igualmente en dicho estudio se demuestra un incremento significativo del IMC a los 5 y 10 años¹⁴⁶. Estas observaciones son particularmente importantes ya que diferentes estudios demuestran una correlación entre la edad del rebote adiposo y obesidad en la edad adulta de manera que cuanto más precoz sea, más riesgo hay de obesidad adulta.

Se ha relacionado la obesidad en la edad escolar con la dosis de hidrocortisona recibida durante los primeros dos años de manera que los que reciben dosis superiores a 30 mg/m²/día presentan obesidad hasta en un 75 % de los casos frente al 11 % en el caso de que reciban dosis inferiores²⁴⁷. Un IMC elevado durante la infancia se correlaciona con peor talla final y mayor sobrepeso en la edad adulta y puede ser un buen marcador de hiperdosificación^{224,248}. Se ha demostrado que los niños con 21OHD forma clásica presenta ya en la prepubertad unos niveles elevados de leptina e insulina así como un estado de insulinoresistencia relacionados con el hiperandrogenismo, el tratamiento crónico con glucocorticoides y una hipofunción de la médula suprarrenal²⁴⁹.

En nuestro trabajo el Z score del peso en mujeres y en varones es inferior al de la población de referencia en todos los grupos etarios (3, 6, 12, 24 y 36 meses).

El Z-score del IMC a los 36 meses en varones ($0,90 \pm 1,42$) es mayor ($p = 0,014$) que en mujeres ($-0,04 \pm 0,65$) sin embargo las dosis de hidrocortisona empleadas en varones a los 24 y 36 meses son inferiores ($15,64$ y $15,40$ mg/m²/día) a las utilizadas en mujeres ($20,24$ y $16,33$ mg/m²/día, respectivamente).

5.3.1.b. Valoración de la talla y de la velocidad de crecimiento

En general, se puede decir que, además del potencial genético de cada paciente, los factores que condicionarán el crecimiento son la forma clínica, la edad al diagnóstico, el posible hipercortisolismo secundario al tratamiento y el hiperandrogenismo previo al inicio del tratamiento o en el curso del tratamiento, por no estar suficientemente frenada la función suprarrenal^{224,250-252}.

El sobretratamiento con corticoides y la hipercortisolemia resultante inhiben el eje somatotropo y disminuyen la absorción intestinal de calcio provocando una alteración en la mineralización ósea de las epífisis. Por otra parte, el hiperandrogenismo induce un adelanto en la maduración ósea y por tanto empeoramiento de la talla adulta. Los andrógenos afectan al crecimiento de los osteoblastos, actuando directa e indirectamente sobre el eje somatotropo. Estudios han demostrados que la exposición de osteoblastos humanos a la dihidrotestosterona incrementa la expresión de mRNA de IGF1 e IGFBP3²⁵³.

En nuestro estudio, pese a partir de longitudes al nacimiento equiparables a la media española (Z-score de la longitud al nacimiento en mujeres 0,2 y en varones 0,07) los pacientes presentaron un patrón de crecimiento ligeramente inferior a la media española en los tres primeros años de vida, mas acusado en las mujeres (el Z-score es -1,29 a los 3 meses,

-1,27 a los 6 meses, -1,28 a los 12 meses, -1,31 a los 24 meses y -1,99 a los 36 meses) que en los varones (-0,75 a los 3 meses, -0,86 a los 6 meses, -0,77 a los 12 meses, -0,91 a los 24 meses y -1,25 a los 36 meses).

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en la talla ni en la velocidad de crecimiento entre las dos formas clínicas de la enfermedad durante los 3 primeros años de vida. Sin embargo, se observa que el Z-score de la talla decrece en los tres primeros años de vida en ambos sexos. Este resultado es equiparable a los encontrados en los trabajos de Hargitai et al, que observan un descenso de la talla media de niñas y niños hasta el percentil 10 a los 1,5 años y de Bonfig et al, en los que el Z-score de la talla de ambos sexos decrece hasta situarse a los 36 meses próximo al Z-score de la talla genética²²³.

En nuestro trabajo el Z-score de la talla a los 36 meses es inferior tanto en niñas (-1,99 \pm 0,80) como en niños (-1,25 \pm 0,86) al z-score de la talla genética (niñas: 0,30 \pm 0,70 y niños: 0,09 \pm 0,93), sin embargo durante la pubertad se produce una mejoría del mismo hasta alcanzar en la talla adulta Z-score próximo a la talla genética en las mujeres y ligeramente inferior a la talla genética en los varones. El Z-score decreciente que encontramos a los 36 meses está más afectado en las niñas que en los niños (-1,99 en niñas y -1,25 en niños), esto podría ser debido a las mayores dosis de hidrocortisona que se emplean en las niñas (26,26 mg/m²/día a los 3 meses, 21,75 mg/m²/día a los 6 meses, 20,82 mg/m²/día a los 12 meses, 20,24 mg/m²/día a los 24 meses y 16,33 mg/m²/día a los 36 meses) comparado con las usadas en los niños (24,08 mg/m²/día a los 3 meses, 17,86 mg/m²/día a los 6 meses, 19,40 mg/m²/día a los 12 meses, 15,64 mg/m²/día a los 24 meses y 15,40 mg/m²/día a los 36 meses). Esta diferencia de dosis es significativa a los 24 meses ($p = 0,008$). Además las descompensaciones que presentan los pacientes en los primeros 3 años de vida, derivadas de las infección intercurrentes más frecuentes en este tramo etario y que precisan dosis más elevadas de hidrocortisona podrían haber influido en el crecimiento.

Durante el primer año de vida, el Z-score de la velocidad de crecimiento en las mujeres (8,27 \pm 6,19) es muy superior al de los varones (3,91 \pm 2,71) siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,025$). Este Z-score de la velocidad de crecimiento decrece en el segundo año de vida hasta 0,70 \pm 1,77 en mujeres y 1,48 \pm 1,52 en varones y en el tercer año hasta 0,35 \pm 2,20 en mujeres y 0,81 \pm 1,63 en varones. Por tanto, las mujeres son las que presentan mayor afectación en el Z-score de la velocidad de crecimiento en el segundo y tercer años de vida. Las dosis medias de hidrocortisona empleadas en las mujeres en el segundo año de vida son significativamente mayores a las utilizadas en varones ($p =$

0,008), hecho que podría estar influyendo en la pérdida del potencial de crecimiento observado en este período de tiempo.

5.3.1.c. Correlación entre las dosis de hidrocortisona y el crecimiento

Una dosis inicial más alta de hidrocortisona permite reducir rápidamente los niveles elevados de andrógenos adrenales durante el periodo neonatal y la primera infancia²⁵⁴. El Consenso sobre manejo de 21OHD elaborado por The Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society and The European Society for Pediatric Endocrinology, sugiere que pueden ser necesarias dosis por encima de 25 mg/m²/día al comienzo y recomienda usar posteriormente dosis de hidrocortisona entre 10-15 mg/m²/día durante la infancia⁹¹. Algunos trabajos reflejan que el Z-score de la talla decrece claramente en los 3 primeros meses de vida cuando se usan dosis iniciales de hidrocortisona mayores a 30 mg/m²/día^{152,224,255} y que el empleo de dosis más bajas se relaciona con mejor talla adulta incluso aunque la producción de andrógenos adrenales no esté controlada, dado que según las conclusiones obtenidas por Thilen et al²⁰³, en el primer año de vida existe una cierta insensibilidad al hiperandrogenismo.

En nuestro estudio las dosis iniciales de hidrocortisona empleadas (340 mg/m²/día en la forma pierde sal y 57,2 mg/m²/día en la virilizante simple) son mayores a las recomendadas por algunos autores. Sin embargo, no hemos encontrado que usar dosis iniciales elevadas de hidrocortisona al diagnóstico tengan correlación con el crecimiento (Z-score de la talla ni de la velocidad de crecimiento) salvo a los 3 meses de edad (R = -0,418, p = 0,004) que se encuentra una correlación inversa. Hemos comprobado que cuanto más tarde se alcance la dosis de mantenimiento (20-25 mg/m²/día), es decir más tiempo se administren dosis altas de hidrocortisona, peor será la talla a los 3 meses (R = -0,426, p = 0,004).

Todas las guías coinciden en que las dosis de hidrocortisona a usar durante la terapia de mantenimiento en niños están entre 10-15 mg/m²/día repartida 3 veces al día. Sin embargo, esta dosis debe ser individualizada ya que difiere en cada niño por causas que aún se desconocen.

El empleo de dosis de mantenimiento por encima de 25 mg/m²/día puede ejercer un efecto supresor del crecimiento²⁵⁶. En el estudio de Bonfig, analizan retrospectivamente la talla de 12 varones con forma virilizante simple nacidos en la era precibado y por tanto no tratados precozmente. Concluyen que hasta los 6 meses existe una cierta insensibilidad a los andrógenos adrenales. Pese a no haber sido tratados, los niños de ese estudio presenta una velocidad de crecimiento normal, lo que sugiere que dosis bajas de hidrocortisona serían

suficientes para el control de estos pacientes²²³. Las dosis empleadas durante la terapia de mantenimiento (24,74 mg/m²/día a los 3 meses, 19,01 mg/m²/día a los 6 meses, 19,80 mg/m²/día a los 12 meses, 16,93 mg/m²/día a los 24 meses y 15,66 mg/m²/día a los 36 meses) son superiores a las que usan otros autores como Bonfig et al (9-15 mg/m²/día)²²³. Sin embargo, el Z-score obtenido en nuestra muestra (niños: -0,77 DE y niñas: -1,28 DE) no difiere de los encontrados en trabajos que emplean dosis menores de hidrocortisona (niños: -0,9 DE a los 12 meses y niñas: -1,3 DE a los 18 meses).

Algunos estudios describen que las dosis de glucocorticoides empleadas guardan una correlación inversa con el crecimiento entre los 6 y 12 meses de edad¹⁴⁹. Estos estudios defienden que es importante emplear la menor dosis de hidrocortisona posible durante la terapia de mantenimiento en los dos primeros años de vida para conseguir un crecimiento adecuado^{223,257,258}.

En este estudio encontramos que las dosis de hidrocortisona administrada a los 3 meses ejercen un efecto negativo en la longitud alcanzada a los 6 meses ($R = -0,586$, $p < 0,001$) y la dosis administrada a los 6 meses se correlaciona inversamente con la longitud a los 12 meses ($R = -0,412$, $p = 0,007$). La correlación encontrada entre las dosis de hidrocortisona y la talla o la velocidad de crecimiento a los 2 y 3 años de vida, es pobre.

No hemos encontrado asociación entre las dosis de fludrocortisona utilizadas y el crecimiento en los 3 primeros años de vida.

5.3.1.d. Correlación de la talla en los tres primeros años de vida con la talla genética

Los pacientes de nuestro estudio, pese a partir de una longitud al nacimiento acorde a su talla genética, presentan un crecimiento en los 3 primeros años de vida, inferior a su potencial genético, siendo la diferencia estadísticamente significativa. La diferencia entre el Z-score de la talla y el Z-score de la talla genética se incrementa con la edad, siendo esta diferencia máxima a los 3 años (-1,66 DE).

5.3.1.e. Valoración de los valores analíticos en los tres primeros años de vida

En la forma virilizante simple los valores medios de 17-OHP son mayores que los obtenidos en la forma pérdida salina los tres primeros años de vida, esto se debe a que en la forma pérdida salina se emplean dosis de glucocorticoides mayores (15-25 mg/m²/día) que en la virilizante simple (10-20 mg/m²/día).

Uno de los objetivos del tratamiento corticoideo es suprimir la secreción de andrógenos adrenales sin ejercer un impacto negativo sobre el crecimiento. Las guías clínicas refieren que la 17-OHP, la androstendiona y la testosterona son los mejores indicadores para el ajuste del tratamiento con glucocorticoides, sin embargo alcanzar niveles normales de los mismos suele indicar sobretratamiento, por lo que la recomendación actual es no suprimir completamente la secreción de esteroides adrenales endógenos para evitar los efectos adversos del sobretratamiento⁸⁷.

Los valores medianos de ARP han sido mayores en el grupo virilizante simple que en el de pérdida salina, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. Lo mismo ocurre con los niveles de aldosterona, son más elevados en la forma virilizante simple que en la pierde sal. El empleo de dosis mayores y más precoces de fludrocortisona en los pacientes con pérdida salina podría ser la causa de este hecho.

5.3.1.f. Valoración de la maduración ósea

Prevenir la exposición a niveles elevados de andrógenos es esencial para mejorar la talla adulta. El empleo de dosis iniciales elevadas de hidrocortisona contribuye a suprimir la síntesis de andrógenos a largo plazo. Para analizar esta hipótesis no es suficiente con cuantificar los niveles de andrógenos pues la sensibilidad individual a los mismos difiere en cada paciente. Para ello, tal y como se hace en otros estudios^{223,254,259} hemos valorado el grado de maduración ósea a los 2 y 3 años de edad.

El exceso de andrógenos produce una aceleración de la maduración ósea. Al analizar este indicador en nuestros pacientes, el ratio EO/EC en la forma pérdida salina es 0,83 a los 2 años y 0,81 a los 3 años, es decir la edad ósea está retrasada respecto a la edad cronológica. En el grupo de virilizante simple, el ratio EO/EC es algo mayor (1,01 a los 2 años y 0,95 a los 3 años), alcanzando esta diferencia significación estadística a los 2 años de edad ($p = 0,050$). El hecho de que la edad ósea no se encuentre acelerada, sugiere que nuestros pacientes no están expuestos a niveles elevados de andrógenos durante los 3 primeros años de vida.

No se ha encontrado correlación entre la maduración ósea y el crecimiento en los tres primeros años de vida.

Tampoco entre las dosis de hidrocortisona ni de mineralcorticoide empleadas en los 3 primeros años de vida y la maduración ósea a los 2 y 3 años.

5.3.1.g. Patología renal asociada

El 16,32% (n= 8) presentaron patología renal asociada durante los primeros 3 años de vida. En todos los casos presentaban forma pérdida salina. La patología renal más frecuente fueron las infecciones de orina (n=4), seguida de la hipercalciuria (n= 4) y la HTA (n=2).

La prevalencia de infección de orina en la población general se estima en 1,9% de los niños y en 8% de las niñas en los primeros 2 años de vida²⁶⁰. En nuestra muestra presentaron infección de orina 1 varón (2,8%) y 3 mujeres (21,4%). La elevada prevalencia de infección de orina en las niñas se asocia a las anomalías genitourinarias que presentan.

La prevalencia de hipercalciuria asintomática en nuestra muestra (8%) fue superior a la encontrada en la literatura (5%).

La tensión arterial es monitorizada en cada revisión. La frecuencia de HTA secundaria al tratamiento en nuestra muestra (4%, n=2) es similar a la encontrada en la bibliografía y equivalente a la prevalencia de hipertensión en la población general pediátrica (2-5%)^{261,262}. Este hecho podría justificarse por el ajuste adecuado de las dosis de hidrocortisona y fludrocortisona empleadas. Nuestros pacientes presentaron un IMC en rango de normopeso y los dos pacientes con IMC elevado no presentaron HTA. En el estudio elaborado por Maccabee-Ryaboy et al, refieren que el 91% de los niños y el 50% de las niñas con forma pierde sal desarrollan HTA antes de los 5 años mientras que en la forma virilizante simple aparece entre los 10-18 años de edad²⁶³. Algunos estudios no encuentran mayor incidencia de HTA en pacientes con 21OHD²⁶⁴⁻²⁶⁶ mientras que otros reportan entre 20-66% de niños con HTA sin precisar el subtipo de HSC que padecen^{246,267-269}. Bonfig et al, encuentran mayor prevalencia de HTA entre los 12 y 24 meses de edad, relacionadas con la administración de dosis altas de 9 α fluorhidrocortisona y bajas de la actividad de renina plasmática y promueven mantener la ARP en el rango normal alto para evitar el desarrollo de HTA en estos pacientes²⁷⁰.

5.3.1.h. Número de consultas requeridas

Los pacientes con la forma más grave de la enfermedad, forma pierde sal, precisan mayor número de atención en consultas que en la forma virilizante simple (19 frente a 14 en el primer año de vida y 5 frente a 4 en el segundo). A partir del tercer año esta diferencia no es significativa.

5.3.1.i. Número de descompensaciones

Los pacientes con formas clásicas de 21OHD no son capaces de producir suficiente cortisol como respuesta fisiológica al estrés en situaciones comunes como pueden ser la fiebre, episodios de gastroenteritis, cirugías o traumatismos, por lo que precisan incrementar la dosis de glucocorticoides durante estos episodios. No precisan incrementar las dosis de glucocorticoides en situaciones de estrés mental o emocional, ante enfermedades banales ni para la realización de ejercicio físico, tal y como recomienda la Sociedad de Endocrinología⁸⁷.

Los padres de todos nuestros pacientes están alertados sobre la necesidad de duplicar la dosis de glucocorticoides ante situaciones de estrés. Pese a ello, algunos pacientes precisaron atención en hospital de día (administración parenteral de hidrocortisona) e incluso ingreso hospitalario por descompensaciones derivadas de infecciones en los tres primeros años de vida.

El 22,7% (n=10) de los pacientes precisaron ser atendidos al menos una vez en el hospital de día de endocrinología, el 18,2% (n=8) dos veces, el 6,8% (n=3) tres veces y el 2,3% (n=1) cuatro veces.

El 32,6% (n=14) de los pacientes ingresaron una vez en los primeros 3 años de vida por descompensación, el 11,6% (n=5) ingresaron dos veces, el 11,6% (n=5) tres veces y el 2,3% (n=1) precisó ingreso en 6 ocasiones. El motivo de ingreso más frecuente que motivó la descompensación fueron las infecciones seguidas de la patología digestiva.

Echeverría et al³⁴, encuentran que algunos pacientes con forma pierde sal por 21OHD presentan no sólo déficit de mineralcorticoides y glucocorticoides como resultado de la afectación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal y del sistema renina-angiotensina-aldosterona sino también tienen comprometido el sistema adrenomedular. Esta disfunción adrenomedular está caracterizada por un déficit en la secreción de adrenalina. Los pacientes con fenotipo pierde sal y déficit de adrenalina presentan más descompensaciones que los afectados por forma pérdida salina sin déficit de adrenalina. Los primeros presentan una menor producción endógena de cortisol y aldosterona que los segundos, precisando dosis mayores de glucocorticoides pero no de mineralcorticoides.

5.3.2. Valoración durante la pubertad

5.3.2.a. Edad inicio puberal

En los pacientes afectos de forma pierde sal, la pubertad se inicia a los 12,81 años en los niños y a los 10,73 años en las niñas. La menarquia ocurre a los 14,05 años. La pubarquia comienza a los 10,77 años en niños y a los 11,47 años en niñas y la axilarquia a los 11,79 años en niños y 12,58 años en niñas.

Estos datos de inicio puberal son equiparables a los de la población general. En el estudio longitudinal de la Fundación Andrea Prader (Zaragoza, 1982-2002), la edad de inicio puberal en los niños es de $12,3 \pm 1,1$ años y en las niñas de $10,6 \pm 1,0$ años; la menarquia se presenta a una edad promedio de $12,7 \pm 0,9$ años²⁷¹.

En los pacientes afectos de forma virilizante simple, la pubertad se inicia a los 11,55 años en los varones y a los 8,01 años en la única mujer con virilizante simple en edad puberal. La pubarquia comienza a los 10,34 años en varones y a los 6 años la paciente incluida. La axilarquia se inicia a los 11,93 años en niños y 10,25 años en la paciente nº10. El estudio de Deslauriers et al, en el que analiza las diferencias en el desarrollo de pacientes con forma virilizante simple, aporta una edad media de inicio puberal de 10,8 años en los niños y 9,4 años en las niñas. La pubarquia comenzó en las niñas a los 10,70 años y en los niños a los 11,75 años y la axilarquia a los 11,41 años en las niñas y a los 12,79 años en los niños²⁷².

5.3.2.b. Antropometría durante la pubertad

En nuestra cohorte, los varones presenta un Z-score del peso al inicio puberal por encima de la población española de referencia ($1,59 \pm 2,48$) y las mujeres próximo a la media poblacional ($0,11 \pm 0,98$). El peso no difiere entre la forma pérdida salina y la VS.

El Z-score de la talla al iniciar la pubertad se sitúa próximo al de la población española de referencia: $0,35 \pm 1,35$ en varones y $0,05 \pm 0,91$ en mujeres.

La ganancia de talla, desde el inicio del estirón hasta la finalización del crecimiento, supone unos 25-30 cm en los varones y unos 23-27 en las mujeres (15-20% de la talla adulta)¹³⁵. El brote de crecimiento puberal parece estar reducido en los pacientes con 21OHD^{236,273,274}. Bonfig et al²⁷⁵ reportan un crecimiento puberal medio de 15,4 cm en varones con virilizante simple y 18,5 cm en pérdida salina y de 11,9 cm en mujeres con virilizante simple y 13,8 cm en pérdida salina, por tanto inferior al de su población de referencia (28,2cm en varones y 20,3 cm en mujeres)²⁷⁶.

En nuestro trabajo los pacientes presentaron un estirón puberal inferior al de la población española de referencia pero equivalente al descrito por otros autores en pacientes con 21OHD, $16,16 \pm 5,03$ cm en varones y $14,26 \pm 7,96$ cm en mujeres.

Hargitai et al, en el estudio multicéntrico realizado en 598 pacientes confirma que el estirón puberal en pacientes con forma virilizante simple es inferior al de los afectados por PS²⁷⁷, estos datos no concuerdan con los encontrados en nuestros pacientes, en los que se objetiva una ganancia puberal media $15,3 \pm 7,16$ cm en pérdida salina y $16,08 \pm 3,96$ cm en virilizante simple.

El estudio de Bizzarri et al¹⁴¹, encuentra que la aceleración del crecimiento ocurre aproximadamente 2 años antes en niños y niñas, el pico de velocidad de crecimiento es normal pero la ganancia de talla durante la pubertad está reducida²⁷⁷.

5.3.2.c. Tratamiento durante la pubertad

Durante la pubertad, incluso en pacientes con buen control, el ajuste de la dosis es más difícil a causa del incremento del aclaramiento del cortisol²⁷⁸, pudiendo llegar a precisar dosis mayores a las recomendadas durante cortos períodos de tiempo⁶⁶.

Las dosis de hidrocortisona empleadas durante la pubertad se ajustan a las recomendaciones internacionales^{87,91}. En las mujeres ($17,74 \pm 2,25$ mg/m²/día) son ligeramente superiores a los varones ($16,94 \pm 4,33$ mg/m²/día) y en la forma pierde sal ($18,12 \pm 3,66$) son superiores respecto a la virilizante simple ($15,88 \pm 4,10$), sin alcanzar significación estadística (P=0,721 y 0,315, respectivamente).

En la pubertad (9-14 años), dosis entre 10-15 mg/m²/día se correlacionan con tallas mejores que las obtenidas cuando se emplean dosis superiores a 20 mg/m²/día^{224,259,279-281}.

En nuestro trabajo no hemos encontrado asociación entre las dosis de hidrocortisona ni fludrocortisona empleadas en los 3 primeros años de vida y el crecimiento puberal.

5.3.2.d. Variables analíticas durante la pubertad

Los niveles medios de 17-OHP y testosterona en el grupo virilizante simple (9,60 ng/ml y 1,45 ng/ml, respectivamente) son superiores a los de pérdida salina (0,36 ng/ml y 0,60 ng/ml, respectivamente). En los niveles de androstendiona, DHEAS no hay diferencias entre formas clínicas.

Teniendo en cuenta la vida media corta de la hidrocortisona y la secreción de 17-OHP regulada por el ritmo circadiano de la ACTH, se establece que los niveles de 17-OHP encontrados en la sangre dependerán del momento en que se realice la extracción de sangre

respecto a la última dosis de glucocorticoide administrada (imagen en espejo). En nuestra muestra, la extracción de sangre venosa para la determinación hormonal se hizo con el paciente colocado en decúbito supino, en reposo desde una hora antes a la realización de la analítica, la extracción siempre se realiza antes de las 09:30 am, sin haber tomado previamente la dosis de medicación esa mañana y tras un período de ayuno nocturno de unas 8 horas. En las mujeres, la determinación se realiza en la fase folicular del ciclo menstrual.

Bizzarri et al¹⁴¹, evalúan el crecimiento en un grupo de pacientes cuya dosis de hidrocortisona está ajustada a los niveles basales hormonales obtenidos tras un período de ayuno nocturno, antes de la dosis de medicación de la mañana y en otro grupo cuya hidrocortisona se ajustó a los niveles hormonales extraídos a las 2-3 horas de haber administrado la dosis de la mañana. Encuentran que los pacientes del segundo grupo, son infratratados, pues ajustan la dosis de hidrocortisona en el momento en que la supresión adrenal es máxima por el pico de efecto de la hidrocortisona administrada en las 2-3 horas previas. Este hecho induce a peores resultados de talla aunque la dosis media de hidrocortisona sea más baja. En nuestro estudio, de acuerdo con Bizzarri, la extracción de sangre venosa para la determinación de las hormonas se realiza a primera hora de la mañana, antes de la administración de la dosis de hidrocortisona y fludrocortisona de la mañana y tras un período de ayuno nocturno.

Los niveles séricos de 17-OHP y androstendiona pueden ser útiles para monitorizar la eficacia del tratamiento pero el ajuste de la terapia debe hacerse fundamentalmente acorde al crecimiento y la maduración ósea¹²⁰.

En nuestra muestra no se encontraron alteraciones en el eje tirotrópico ni somatotrópico durante la pubertad.

Se han analizado los valores de insulina basal y HbA1c al llegar a la pubertad pero no se han encontrado alteraciones del metabolismo hidrocarbonado. Este hecho podría ser explicado por el IMC en rango de normopeso de nuestros pacientes ($0,83 \pm 1,94$).

5.3.2.e. Valoración de la maduración ósea durante la pubertad

En el estudio de Takasawa et al²⁵⁴, la edad ósea no está acelerada respecto a la edad cronológica a los 3 años (varones $0,75 \pm 0,17$ y mujeres $0,79 \pm 0,08$) ni a los 6 años de vida (varones $0,91 \pm 0,17$ y mujeres $0,87 \pm 0,15$). Se ha sugerido que la edad ósea a los 8 años podría ser un buen predictor de la talla adulta²⁴¹.

En nuestro estudio, la edad ósea no está acelerada respecto a la edad cronológica a los 2 años (varones $0,86 \pm 0,22$ y mujeres $0,89 \pm 0,14$) ni a los 3 años (varones $0,85 \pm 0,19$ y mujeres $0,80 \pm 0,14$), sin embargo al llegar a la pubertad en las niñas la edad ósea avanza hasta ser acorde a la edad cronológica ($1,00 \pm 0,20$).

Los resultados encontrados en nuestro estudio y en el de Takasawa²⁵⁴ sugieren que los pacientes no están expuestos a niveles elevados de andrógenos adrenales. En nuestro estudio se ha conseguido suprimir el efecto androgénico con dosis de hidrocortisona medias ($16,48 \pm 4,17$ mg/m²/día a los 2 años y $15,66 \pm 3,45$ mg/m²/día a los 3 años) inferiores a las del estudio de Takasawa ($20,2$ mg/m²/día a los 2 años, $17,5$ mg/m²/día a los 3 años).

En nuestra cohorte de pacientes con forma pérdida salina, la edad ósea no está acelerada respecto a la edad cronológica a los 2 años ($0,83 \pm 0,20$), a los 3 años ($0,81 \pm 0,17$) ni al llegar a la pubertad ($0,81 \pm 0,16$). Sin embargo, en la forma virilizante simple, la edad ósea está ligeramente acelerada respecto a la edad cronológica a los 2 años ($1,01 \pm 0,17$) a los 3 años se equipara a la edad cronológica ($0,95 \pm 0,20$) pero al llegar a la pubertad vuelve a estar adelantada ($1,08 \pm 0,27$). Si en la pubertad la edad ósea está acelerada respecto a la edad cronológica, la talla en la pubertad es más elevada ($R = 0,720$, $p = 0,004$).

No se ha encontrado asociación entre las dosis de hidrocortisona empleadas en los 3 primeros años de vida y la maduración ósea en la edad puberal, sin embargo hemos encontrado que a mayor dosis de mineralcorticoide utilizada a los 12, 24 y 36 meses, menor ratio EO/EC en la pubertad ($R = -0,643$, $R = -0,655$, $R = -0,445$ respectivamente), siendo esta relación estadísticamente significativa ($p = 0,001$, $p = 0,001$, $p = 0,038$, respectivamente). Es decir cuanto mayor es la dosis de fludrocortisona a empleada en los tres primeros años de vida, la edad ósea se acelera menos respecto a la edad cronológica. Esta correlación ya ha sido descrita por otros autores, que observan que los pacientes tratados con mineralcorticoides precisan menos dosis de hidrocortisona lo que contribuye a obtener mejores resultados de talla final^{141,235}. Este hecho podría explicarse porque el empleo de dosis más altas de mineralcorticoides suele ir asociado al empleo de dosis menores de hidrocortisona, responsables en cierta medida del hipercortisolismo que pueden sufrir estos pacientes.

5.3.3. Valoración durante la edad adulta

5.3.3.a. Edad a la que se alcanzó la talla adulta

La talla adulta definida como velocidad de crecimiento inferior a 1,1 cm/año se alcanzó a una edad media de 18,13 años ($\pm 2,17$) en las mujeres y de 17,97 años ($\pm 3,24$) en los varones. En otros estudios publicados la talla adulta se alcanzó a los 14,1 años en los varones y 12,9 años en las mujeres.

Los pacientes con forma virilizante simple alcanzan su talla adulta antes que los afectos de forma pérdida salina (16,48 años y 19,05 años, respectivamente). Este hecho podría estar en consonancia con el adelanto en la maduración ósea que presentan los pacientes con forma virilizante simple en la pubertad respecto a los afectos por forma pérdida salina ($p = 0,024$).

5.3.3.b. Antropometría en la edad adulta

Una amplia multitud de estudios confirman que la talla final de los pacientes con 21OHD es inferior a la población de referencia y a su potencial genético²⁷⁷.

La talla adulta media alcanzada en nuestra muestra es $167,13 \pm 7,79$ cm (IC 95%: 162,81; 171,45) y el Z-score medio de la talla adulta es $-0,60 \pm 1,35$ (IC 95%: -1,35; 0,14), por tanto la talla media adulta es inferior a la media poblacional. Tan sólo un paciente varón afecto de forma virilizante simple ha presentado una talla adulta inferior a < -2 DE en posible relación con falta de adherencia al tratamiento y abandono del mismo durante 2 años. En otros estudios, se ha encontrado que en el 45,1% de los pacientes la talla adulta fue inferior a -2 DE²⁸².

Numerosos estudios analizan la talla adulta en pacientes con 21OHD, reportando una talla adulta entre 161,4 y 173,6 cm en varones y entre 150,0 y 162,1 cm en mujeres^{224,241,257,282}.

A pesar del cuidadoso control médico y del buen cumplimiento terapéutico por parte de los pacientes, la talla final media reportada en diferentes trabajos se sitúa entre -1 y -2 DE en relación a la media poblacional e inferior a la talla genética, aproximadamente a -1 SDS^{154,250,251,257,258,283-285}.

En 2001, Eugster y colaboradores, publican un metaanálisis realizado en 18 centros a nivel mundial, con una reducción de la talla adulta de $-1,37$ DE²⁵⁰. En el mismo año, el grupo de Hargitai estudia 341 pacientes con formas clásicas, de los cuales 124 habían alcanzado la

talla adulta. En ellos encuentra que los varones pierden 10 cm y las mujeres 8 cm sobre la talla esperada²⁷⁷. No todos los trabajos encuentran los mismos resultados, habiendo mejorado la talla final al ir optimizando el tratamiento. Los factores pronósticos responsables de la afectación de la talla adulta son:

- Edad de inicio de tratamiento y diagnóstico tardío
- Dosis insuficientes de glucocorticoides que producen un hiperandrogenismo mantenido con aceleración de la edad ósea
- Dosis altas de glucocorticoides con el consiguiente hipercortisolismo
- Diferente severidad clínica y forma clínica
- Grado de control hormonal
- Otros factores: genéticos, alteraciones en el eje del crecimiento, pubertad precoz/adelantada, cumplimiento terapéutico, control hormonal

En la actualidad una talla adulta cercana a -1 DE es un objetivo factible a conseguir con la terapia convencional siempre que se mantengan las premisas de un diagnóstico y tratamiento precoz, buen cumplimiento y dosis optimizadas.

La talla adulta media alcanzada por los varones de nuestra cohorte es $169,30 \pm 7,75$ cm y por las mujeres $162,80 \pm 6,49$ cm. Al comparar la talla adulta respecto a la población española de referencia, el z-score de la talla en los varones es $-1,04 \pm 1,28$ y en las mujeres $0,27 \pm 1,13$. Al igual que en otros estudios, no hemos encontrado diferencias entre varones y mujeres²⁵⁰.

La talla media adulta alcanzada en la forma pérdida salina es $168,66 \pm 4,97$ cm y en la virilizante simple $164,83 \pm 10,95$ cm. El Z-score de la talla adulta en la forma pérdida salina es $-0,07 \pm 0,97$ y en la virilizante simple $-1,39 \pm 1,53$. Estos resultados parecen ser mejores que los reportados en un metaanálisis (2008) en el que se confirmaba un Z-score medio de talla adulta $-1,56$ en pérdida salina y $-1,20$ en virilizante simple.

Algunos estudios sugieren que los pacientes con 21OHD tratados con hidrocortisona presentan una talla adulta 6-12 cm menor a su talla diana^{242,286,287}. Según el estudio realizado por Deslauriers et al, la pérdida de talla media respecto a talla genética en los varones es 12,9 cm y en las mujeres sólo 6,9 cm menos. En otro estudio elaborado en 82 niños chinos²⁸², se analiza la talla final en pacientes tratados $155,3 \pm 8,2$ cm, $-1,7 \pm 1,1$ DE frente a los no

tratados $147,3 \pm 5,2$ cm, $-2,6 \pm 1,0$ DE ($p = 0,01$), para unas tallas genéticas de $161,4 \pm 7,0$ cm y $156,3 \pm 3,8$ cm, respectivamente.

De los 15 pacientes que han llegado a edad adulta, 11 han alcanzado una talla adulta acorde a la genética ± 5 cm. En 4 casos la talla adulta alcanzada ha sido inferior a su talla genética menos 5 cm. La diferencia media entre talla adulta y talla genética de nuestra muestra es $5,74 \pm 5,7$ cm. El Z-score medio entre talla adulta y talla genética encontrado en nuestra muestra ($0,05 \pm 0,66$ DE) es inferior al descrito por otros autores: $-1,65 \pm 1,2$ DE¹⁵⁶, $-1,49 \pm 0,34$ DE⁵⁴, $-1,34 \pm 0,79$ DE²⁵⁸ o $-1,37$ DE²⁵⁰. Otros estudios reflejan que los pacientes alcanzan entre 82.3 y 100.1% su talla diana²⁵⁷, entre 84.31 y 101.2% su talla diana²⁷⁹, en un 74,4% su talla diana²⁸². En nuestro estudio el 73,3% de nuestros pacientes alcanzaron su talla genética.

Por tanto, aunque según los datos encontrados en la bibliografía la talla de los pacientes con 21OHD difieren en más de 1 DE respecto a su talla genética, incluso en presencia de longitud normal al nacimiento, en nuestro estudio esta diferencia ha sido menor. Esto sugiere que además de la talla genética existen otros factores que condicionan el crecimiento como la maduración ósea, la dosis de hidrocortisona, la edad al diagnóstico, la adherencia y respuesta al tratamiento, el genotipo y la forma clínica.

Los varones presentan una diferencia de talla adulta respecto a talla genética de $-3,83$ cm y las mujeres de $+1,01$ cm. Estos resultados mejoran los encontrados en la literatura (varones $-6,92$ cm y mujeres $-2,62$ cm). Los mejores resultados de talla obtenidos en mujeres podrían deberse al diagnóstico más precoz en el sexo femenino.

Entre los 4 pacientes que no consiguieron alcanzar su talla genética (2 varones pérdida salina y 2 varones virilizante simple), uno de ellos había presentado pubertad precoz tratada con análogos de GnRH. El estudio de Juan et al²⁸², refleja que la talla final en pacientes tratados con GnRH ($-1,8 \pm 0,9$ DE) no es significativamente ($p = 0,062$) mejor que la de los no tratados ($-2,5 \pm 1,0$ DE) sin embargo la talla de los pacientes tratados con GnRH y letrozol ($-1,3 \pm 0,8$ DE) si es significativamente mejor que la de los no tratados ($p = 0,045$). En nuestra cohorte, en 3 varones (dos afectos de forma pérdida salina y otro de virilizante simple) se ha empleado anastrozol. En el primer caso la talla adulta alcanzada fue 0,5 cm superior a su talla genética, en el segundo caso el PTA es 1,80 cm menor que su talla diana y en el tercer paciente el PTA es 9,55 cm superior a su talla diana.

Diversos trabajos sugieren que la talla adulta disminuye en pacientes que han recibido más de 20 mg/m²/día en la infancia y más de 15-17 mg/m²/día durante la pubertad^{149,236,274,277,279}. En nuestro trabajo no se ha encontrado correlación entre las dosis de hidrocortisona empleadas en los 3 primeros años de vida ni en la pubertad con la talla adulta ni con el pronóstico de talla adulta.

Tal y como postulan algunos estudios la talla baja que presentan estos pacientes mejora significativamente con el inicio precoz de la terapia de reemplazo^{142,224,238,288}, como es el caso de nuestros pacientes en los que hemos encontrado una correlación inversa entre edad al diagnóstico y talla adulta (R = -0,498, p = 0,010). Cuanto más precoz sea el diagnóstico mejor talla adulta alcanzan. Un metanálisis²⁵⁰ que revisaba los estudio publicados hasta 1998 encontró que el Z-score medio de la talla adulta era -1,37 y la diferencia entre el Z-score de la talla genética y la talla adulta alcanzada era -1,21. Otro metanálisis más reciente que revisa 35 estudios, concluye que la talla final media alcanzada por los pacientes con 21OHD fue -1,38 DE, mientras que la diferencia media entre la talla final y la talla genética era -1,03 DE. Esta diferencia entre DE de la talla genética y talla final no guardaba relación con la edad al diagnóstico, el sexo, tipo y dosis de esteroide administrado ni la edad de inicio puberal, pero los pacientes que utilizaban mineralcorticoides presentaron mejores resultados de talla que los que no lo tomaban (p = 0,02). En nuestro estudio comprobamos que a mayor dosis de mineralcorticoide empleada en primer año de vida (R = 0,445 a los 3 meses, R = 0,422 a los 6 meses y R = 0,422 a los 12 meses), mayor talla en edad adulta. Las dosis de fludrocortisona empleadas en la pubertad (R = 0,440) y en la edad adulta (R = 0,593) también guardan una correlación positiva con la talla adulta.

Coincidiendo con los resultados obtenidos en un metanálisis de pacientes con 21OHD, la talla adulta ajustada a la talla genética en nuestra muestra no guarda correlación con las dosis de glucocorticoides²³⁵, por lo que aunque no existe una clara correlación ente la dosis de glucocorticoides usada durante la terapia de mantenimiento y el pronóstico de talla, es razonable tratar a los niños antes de la pubertad con la dosis mínima eficaz. Podrían ser útiles terapias alterativas (inhibidores de la aromatasa, rhGH) para mejorar la talla final en pacientes con pubertad precoz²³⁵.

Tal y como se describe en la literatura, la talla adulta de los pacientes con forma virilizante simple está más afectada respecto a su potencial genético que los pacientes con pérdida salina^{273,289}. Según Juan et al, la talla media en la forma virilizante simple fue 151,9 ± 8 cm y en la pierde sal 157,2 ± 8cm²⁸². Según Speiser et al⁸⁷, la talla media adulta en las

mujeres con forma virilizante simple fue $153,3 \pm 5,4$ cm y en los varones $164,0 \pm 7,6$ cm⁸⁷. En nuestro estudio, pese a que el estirón puberal es ligeramente superior en la forma virilizante simple (16,08 cm vs 15,30 cm), no contrarresta la talla media ligeramente inferior al inicio de la pubertad de la forma virilizante simple (146,06 cm) versus pérdida salina (147,72 cm), por lo que unido a una maduración ósea ligeramente avanzada (EO/EC 1,08 en virilizante simple frente a 0,81 en pérdida salina), conducen a una talla adulta más afectada en la forma virilizante simple que en la forma pérdida salina ($164,83 \pm 10,95$ cm en virilizante simple y $168,66 \pm 4,97$ cm en pérdida salina), aunque menor que la reflejada en la literatura.

Se ha encontrado una correlación inversa ($R = -0,630$) entre el ratio EO/EC en la pubertad y la talla adulta ($p = 0,038$). A mayor aceleración de la edad ósea en la pubertad, peor talla adulta. Esta misma correlación se encuentra al comparar la edad ósea puberal ($R = -0,533$) con la talla adulta y pronóstico de talla adulta ($p = 0,013$).

Algunos autores han descrito una correlación entre la talla alcanzada a los 2 años y la talla adulta^{224,242,273,290,291}. En nuestro trabajo se ha encontrado una correlación directa estadísticamente significativa ($p = 0,009$) entre la talla a los 36 meses de edad y la talla adulta ($R = 0,692$). Cuanto mayor sea la talla a los 3 años mayor será la talla adulta. La talla a los 24 meses de edad también guarda una correlación positiva con el Z-score de la talla y pronóstico de talla adulta ($R = 0,490$; $p = 0,015$).

Otro efecto adverso de los corticoides es su relación con la obesidad, descrita en diversos estudios^{146,255,291,292}. En nuestros pacientes el Z-score medio del IMC al llegar a la edad adulta se sitúa dentro de límites normales respecto a población de referencia (1,01 en varones y -0,16 en mujeres). En nuestra muestra, 2 varones presentaron obesidad (IMC >2 DE) en la edad adulta (ya eran obesos en la pubertad), 4 presentaron sobrepeso durante la pubertad (3 varones y 1 mujer) y 3 pacientes en la edad adulta (2 varones y 1 mujer).

Los pacientes afectados de forma virilizante simple presenta un IMC mayor que los afectados de forma pérdida salina y superior a la población española de referencia (1,41 en virilizante simple y 0,09 en pérdida salina).

No hemos encontrado correlación entre el IMC y la dosis de glucocorticoides utilizadas en pubertad y edad adulta, tal y como se refleja en otros estudios analizados²⁸².

5.4. Limitaciones y fortalezas del estudio

Entre las limitaciones, destacan el diseño retrospectivo y la muestra pequeña de pacientes que induce una amplia dispersión de los datos. Debido a la naturaleza retrospectiva del estudio, no se han analizado las diferencias individuales de adherencia al tratamiento. El diagnóstico temprano y la monitorización estrecha y frecuente de los pacientes contribuyen a mejorar los resultados de talla obtenidos.

En contraposición a las limitaciones, la principal fortaleza del estudio es el número de pacientes incluido, superior a otros estudios publicados, y la homogeneidad de la muestra, ya que todos los pacientes fueron diagnosticados y controlados en la misma unidad clínica, aplicando el mismo protocolo de diagnóstico y seguimiento, lo que asegura un enfoque bastante uniforme y la continuidad de la atención, haciendo las comparaciones más reales. Todos han sido tratados con hidrocortisona y fludrocortisona. Pese a que la muestra es pequeña, representa un espectro de pacientes amplio afectos de esta enfermedad, por lo que los resultados podrían ser generalizables para toda la población de enfermos de 21OHD.

Dado que la androgenización ósea de los pacientes en la pubertad es un factor de mal pronóstico respecto a la talla adulta, serían necesarios más estudios que analizaran aspectos como la vía alternativa “puerta de atrás o backdoor pathway”. Posiblemente la administración continua de hidrocortisona que simule la secreción fisiológica del cortisol, permitiría un mayor control de la producción androgénica que actualmente escapa al control de las dosis de hidrocortisona empleadas debido a su corta vida media. Sería útil la realización de perfiles diarios de andrógenos para profundizar en el conocimiento de esta enfermedad y así optimizar en el tratamiento de estos niños.

6. CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

El trabajo realizado cumple con los objetivos planteados. A continuación, se enumeran las principales conclusiones obtenidas en esta Tesis Doctoral:

1. El cribado neonatal permite la detección de la enfermedad en edades muy tempranas, antes del inicio de la crisis adrenal. En la mayoría de los pacientes no existía sospecha clínica de la enfermedad. La mayor parte de ellos estaban en sus domicilios y sólo algunos estaban ingresados por motivos ajenos a 21OHD. En varias niñas se había realizado asignación incorrecta de sexo al nacimiento.
2. La determinación de 17-OHP en papel absorbente discrimina entre niños sanos y enfermos y permite predecir la forma clínica pérdida salina y virilizante simple.
3. El estudio genético molecular confirma el diagnóstico de 21OHD y permite excluir las elevaciones transitorias de 17-OHP. La alteración genética más frecuente encontrada en nuestra muestra son las deleciones/conversiones y la mutación puntual más frecuente ha sido c.293-13C>G. En nuestra cohorte se han descrito dos mutaciones nuevas: p.Val282Leu; c.292+5G>A y c.862.G>C (p.Asp287His).
4. El tratamiento de la 21OHD es hidrocortisona. El comienzo del tratamiento coincide con el diagnóstico de la enfermedad. En la forma pierde sal es más precoz que en la virilizante simple. Todos los pacientes con pérdida salina y algunos con virilizante simple fueron tratados con fludrocortisona. Todos los afectos de forma pierde sal recibieron suplementos de sodio hasta el inicio de la alimentación complementaria.
5. Las dosis de hidrocortisona empleadas al inicio del tratamiento son elevadas para sustituir rápidamente el defecto de hormonas suprarrenales y evitar así el desarrollo de una crisis adrenal. Los pacientes con pérdida salina recibieron dosis mayores de hidrocortisona que los virilizante simple. Estas dosis se disminuyeron rápidamente hasta alcanzar dosis de mantenimiento en el segundo mes de vida.
6. Las dosis de hidrocortisona empleadas son mayores en el primer año y decrecen progresivamente hasta los 3 años. La dosis de hidrocortisona empleadas al diagnóstico de la enfermedad y la demora en alcanzar las dosis consideradas de mantenimiento (20-25 mg/m²/día), ejercen un efecto negativo en el crecimiento en los primeros 12 meses de vida.

7. En los tres primeros años de vida, pese a partir de longitudes al nacimiento equiparables a la media poblacional los pacientes presentaron un patrón de crecimiento inferior a la población española de referencia y a su potencial genético. El Z-score de la talla en las mujeres es significativamente menor al de los varones, siendo esta diferencia más acusada a los 3 años de edad. El crecimiento no difiere según la forma clínica en los tres primeros años de vida.
8. La talla a los 3 años se correlaciona de forma directa con la talla adulta.
9. La talla adulta es ligeramente inferior a la de la población española de referencia. Los pacientes afectados de forma pérdida salina presentan una talla media adulta equiparable a la de la media poblacional pero en los afectados de forma virilizante simple, la talla adulta es inferior a la de la población de referencia.
10. Las dosis de hidrocortisona recibidas en los tres primeros años de vida, en la pubertad y en la edad adulta no tienen una relación estrecha con la talla en la edad adulta. Sin embargo, no se puede descartar una cierta influencia dado que las dosis de hidrocortisona en el primer año de vida repercuten negativamente en la talla a los 3 años y la talla a los 3 años se correlaciona con la talla en la edad adulta.
11. Las dosis de fludrocortisona repercuten de forma positiva sobre la talla adulta y ejercen un efecto inverso sobre la maduración ósea. También ejercen un efecto beneficioso sobre el IMC en edad adulta.
12. En la forma pierde sal la maduración ósea está retrasada respecto a la edad cronológica a los 2, 3 años de vida y al inicio de la pubertad. En los pacientes con forma virilizante simple, la edad ósea está adelantada a la cronológica a los 2 años y al llegar a la pubertad.
13. La edad ósea acelerada en la pubertad implica mejor talla puberal pero peor talla adulta. La maduración ósea en la pubertad se correlaciona de forma inversa con la talla adulta. Los pacientes con forma virilizante simple presenta un adelanto de la edad ósea en la pubertad que repercute negativamente en la talla adulta.
14. Los niveles plasmáticos de 17-OHP en sangre venosa en los 3 primeros años de vida son superiores en pacientes con forma virilizante simple que en afectados de forma pérdida salina. Las dosis de hidrocortisona se correlacionan de forma inversa con los niveles plasmáticos de 17-OHP, de ahí que los pacientes afectados de forma pierde sal, tratados con dosis mayores de hidrocortisona, presenten niveles menores de 17-OHP.

15. No existe sobrepeso ni obesidad durante los tres primeros años de vida, en la pubertad ni en la edad adulta en la mayor parte de nuestros pacientes. No se ha encontrado correlación entre las dosis de hidrocortisona y el IMC.

Resumen final:

El cribado neonatal de 21OHD establece el diagnóstico precoz en pacientes sin sospecha clínica de la enfermedad lo que permite el inicio y adecuación precoz de su tratamiento. El estudio genético molecular aporta información útil sobre la forma clínica de la enfermedad y permite realizar consejo genético.

Las dosis elevadas de hidrocortisona en el primer año de vida repercuten negativamente en la talla en los primeros años de vida pero no se relacionan de forma directa con la talla adulta.

Los factores que más influyen en la talla adulta son la maduración ósea presentada en la pubertad y la utilización de mineralcorticoides. A mayor maduración ósea en la pubertad peor talla adulta y a mayor dosis de mineralcorticoides en la pubertad mejor talla adulta.

7. BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Martín A, Millán S, López-Calderón A. Estructuras y función de la corteza suprarrenal. Mineralcorticoides. Tratado de Endocrinología Básica y Clínica ed. Tresguerres J, Aguilar E, Devesa J, Moreno B, editors. Madrid: Síntesis; 2000. 951-76 p.
2. Hadley M. Endocrinology. 5ª ed. Upper Saddle River: Prentice Hall; 1999.
3. Bornstein S, Ehrhart-Bornstein M, Scherbaum W. Morphological and functional studies of the paracrine interaction between cortex and medulla in the adrenal gland. *Microsc Res Tech*. 1997;36:520-33.
4. Ehrhart-Bornstein M, Hinson J, Bornstein S. Intraadrenal interactions in the regulation of adrenocortical steroidogenesis. *Endocr Rev*. 1998;19:101-43.
5. Capponi A. Regulation of cholesterol supply for mineralcorticoid biosynthesis. *Trends Endocrinol Metab*. 2002;13:118-21.
6. Brown M, Goldstein J. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science*. 1986;232:34-47.
7. Miller W. Steroidogenic acute regulatory protein (StAR), a novel mitochondrial cholesterol transporter. *Biochim Biophys Acta*. 2007;1771:663-76.
8. Azhar S, Reaven E. Scavenger receptor class BI and selective cholesterol ester uptake: Partners in the regulation of steroidogenesis. *Mol Cell Endocrinol*. 2002;195:1-26.
9. Liu J, Heikkila P, Meng Q. Expression of low and high density lipoprotein receptor genes in human adrenals. *Eur J Endocrinol*. 2000;142:677-82.
10. Soccio R, Breslow J. StAR-related lipid transfer (START) proteins: mediators of intracellular lipid metabolism. *J Biol Chem*. 2003;278:22183-6.
11. Calvo D, Gómez-Coronado D, Lasunción M. CLA-1 is an 85-kD plasma membrane glycoprotein that acts as a high-affinity receptor for both native (HDL, LDL, and VLDL) and modified (OxLDL, AcLDL) lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17:2341-9.
12. Miller W. Molecular biology of steroid hormone synthesis. *Endocr Rev*. 1988;9:295-318.
13. Arlt W, Stewart P. Adrenal corticosteroid biosynthesis, metabolism and action. *Endocrinol Metab Clin N Am*. 2005;34:293-313.
14. Kallen C, Arakane F, Christenson L. Unveiling the mechanism of action and regulation of the steroidogenic acute regulatory protein. *Mol Cell Endocrinol*. 1998;145:39-45.
15. Stocco D. The role of the StAR protein in steroidogenesis: Challenges for the future. *J Endocrinol*. 2000;164:247-53.
16. Arlt W, Willis DS, Wild SH, Krone N, Doherty EJ, Hahner S, et al. Health status of adults with congenital adrenal hyperplasia: a cohort study of 203 patients. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2010;95(11):5110-21.
17. Conley A, Bird I. The role of cytochrome P450 17alpha-hydroxylase and 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase in the integration of gonadal and adrenal steroidogenesis via delta5 and delta4 pathways of steroidogenesis in mammals. *Biol Reprod*. 1997;56:789-99.
18. López-Calderón A, Martín A, Soto L. Glucocorticoides. Andrógenos adrenales. Tresguerres J, Aguilar E, Devesa J, Moreno B, editors. Madrid: Síntesis; 2000. 978-1002 p.
19. Pombo M, Tena-Sempere M. Biosíntesis y regulación de los esteroides corticosuprarenales. In: Ferrenia R, León M, Sánchez C, editors. Tratado de Endocrinología Pediátrica. 4ª ed. Madrid: McGraw-Hill, Interamericana; 2009. p. 629-35.
20. Lahera V, Navarro-Cid J, De las Heras N. Sistema renina-angiotensina. In: Tresguerres J, Aguilar E, Devesa J, Moreno B, editors. Tratado de Endocrinología Básica y Clínica. Madrid: Síntesis; 2000. p. 1367-84.
21. Hackenthal E, Paul M, Ganten D. Morphology, physiology and molecular biology of rennin secretion. *Physiol Rev*. 1990;70:1067-116.

22. Cherradi N, Brandenburguer Y, Rossier M. Atrial natriuretic peptide inhibits calcium-induced steroidogenic acute regulatory protein gene transcription in adrenal glomerulosa cells. *Mol Cell Endocrinol.* 1998;12:962-72.
23. Ivars K NN, Theodorsson A, Theodorsson E, Ström JO, Mörelius E. . Development of salivary cortisol circadian rhythm in preterm infants. *PLoS One* 2015;10(6):1-13.
24. G. S. The emergence of adrenocortical circadian function in newborns and infants and its relationship to sleep, feeding and maternal adrenocortical activity. *Early human development* 1991;25(3):197-208.
25. Hammond G, Smith C, Goping I, Underhill D, Harley M, Reventos J, et al. Primary structure of human corticosteroid binding globulin, deduced from hepatic and pulmonary cDNAs, exhibits homology with serine protease inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987;84:5153-7.
26. Underhill D, Hammond G. Organization of the human corticosteroid binding globulin gene and analysis of its 5'-flanking region. *Mol Endocrinol.* 1989;3:1448-54.
27. Brownie A. The metabolism of adrenal cortical steroids. In: VHT J, editor. *The Adrenal Gland.* New York: Raven Press; 1992. p. 209-24.
28. Sharon Chan MD. Replication of cortisol circadian rhythm: new advances in hydrocortisone replacement therapy. *Ther Adv Endocrinol Metab.* 2010;1(3):129–38.
29. Delle Piane L, Rinaudo PF, Miller WL. 150 years of congenital adrenal hyperplasia: translation and commentary of De Crecchio's classic paper from 1865. *Endocrinology.* 2015;156(4):1210-7.
30. RJ Auchus SW, KR Leight, J Aisenberg, R Azziz, TA Bachega. Guidelines for the Development of Comprehensive Care Centers for Congenital Adrenal Hyperplasia: Guidance from the CARES Foundation Initiative. *International journal of pediatric endocrinology.* 2010:1-17
31. Speiser PW, Azziz R, Baskin LS, Ghizzoni L, Hensle TW, Merke DP, et al. Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21-hydroxylase deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2010;95(9):4133-60.
32. Merke DP, Bornstein SR. Congenital adrenal hyperplasia. *Lancet (London, England).* 2005;365(9477):2125-36.
33. Matsubara YO, M; Miyai, K; Takizawa, F; Takasawa, K; Onishi, T; Kashimada, K; Mizutani, S;. Longitudinal analysis of growth and body composition of Japanese 21-OHD patients in childhood. *Endocrine Journal* 2013;60 (2):149-54.
34. Echeverria M BP, Alvarez B, Ezquieta B, Rodríguez MD, Rodríguez A. Adrenomedullary function in 21-hydroxylase deficiency. Is there an association with adrenal crises? Madrid: Departamento de Pediatría, Universidad Complutense de Madrid. 2010.
35. Wilson JD AR, Leihy MW, Guryev OL, Estabrook RW, Osborn SM, Shaw G, Renfree MB 5-androstane-3,17-diol is formed in tammar wallaby pouch young testes by a pathway involving 5-pregnane-3,17-diol-20-one as a key intermediate. *Endocrinology.* 2003 144:575–80.
36. Clemens Kamrath ZeH, Michaela F. Hartmann, Thomas Remer, and Stefan A. Wudy. Increased Activation of the Alternative “Backdoor” Pathway in Patients with 21-Hydroxylase Deficiency: Evidence from Urinary Steroid Hormone Analysis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2012;97(3):E367–E75.
37. Keiko Homma TH, Toshiro Nagai, Masanori Adachi, Reiko Horikawa, Ikuma Fujiwara, Toshihiro Tajima, Ryoujun Takeda, Maki Fukami, and Tsutomu Ogata. Urine Steroid Hormone Profile Analysis in Cytochrome P450 Oxidoreductase Deficiency: Implication for the Backdoor Pathway to Dihydrotestosterone. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2006;91(7):2643-9.
38. Mahendroo M WJ, Richardson JA, Auchus RJ Steroid 5-reductase 1 promotes 5-androstane-3,17-diol synthesis in immature mouse testes by two pathways. *Mol Cell Endocrinol* 2004;222:113–20.
39. Auchus RJ. The backdoor pathway to dihydrotestosterone. *TRENDS in Endocrinology and Metabolism.* 2004;15(9):432-8.
40. Gupta MK GO, Auchus RJ. 5-Reduced C21 steroids are substrates for human cytochrome P450c17. *Arch Biochem Biophys.* 2003; 418:151–60.

41. Kamrath C HZ, Hartmann MF, Remer T, Wudy SA Increased activation of the alternative “backdoor” pathway in patients with 21-hydroxylase deficiency: evidence from urinary steroid hormone analysis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2012;97:E367–E75.
42. Nordenström A AS, Jones J, Coleman M, Price DA, Clayton PE, Hall CM. Female preponderance in congenital adrenal hyperplasia due to CYP21 deficiency in England: implications for neonatal screening. *Horm Res*. 2005;63:22–8.
43. Pang S SM. Current status of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. *Curr Opin Pediatr* 1997;9:419–23.
44. BL T. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2001;30:15–30.
45. Van Der Kamp HJ WJ. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. *Eur J Endocrinol*. 2004;151(Suppl 3):U71–U5.
46. Speiser PW WP. Congenital adrenal hyperplasia. *N Engl J Med*. 2003;349(8):776-88.
47. Torresani T GtA, Scherz R, et al. Improving the efficacy of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia by adjusting the cut-off level of 17b-hydroxyprogesterone to gestational age. *Screening* 1994;3:77–84.
48. Peter M VM, Partsch C, et al. Congenital adrenal hypoplasia: clinical spectrum: experience with hormonal diagnosis, and report on new point mutations of the DAX-1 gene. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2666–74.
49. Begoña Ezquieta MLFR, Elena Dulín, Dolores R. Arnao y Amparo Rodríguez. Prevalence of frequent recessive diseases in the Spanish population through DNA analyses on samples from the neonatal screening. *Med Clin*. 2005;125(13):493-5.
50. Speiser PW DB, Rubinstein P, Piazza A, Kastelan A, New MI. High frequency of nonclassical steroid 21-hydroxylase deficiency. *Am J Hum Genet*. 1985;37:650-67.
51. L S. Congenital adrenal hyperplasia: an endocrine disorder with neonatal onset. *Crit Care Nurs Clin Nort Am*. 2009;21:195-212.
52. Bachelot A CZ, Rouxel A, Dulon J, Touraine P. Classical Forms of Congenital Adrenal Hyperplasia due to 21-Hydroxylase Deficiency in Adults. *Horm Res* 2008;69:203–11
53. Mulaikal RM MC, Rock JA. Fertility rates in female patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. 1987;316:178–82.
54. Premawardhana LD HI, Read GF, Scanlon MF. Longer tem outcome in females with congenital adrenal hyperplasia (CAH): the Cardiff experience. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1997;46:327–32.
55. Krone N WI, Stefanidou M, Roscher AA, Schwarz HP. Mothers with congenital adrenal hyperplasia and their children: outcome of pregnancy, birth and childhood. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001;55:523–9.
56. Lo JC GM. Pregnancy outcomes in women with congenital virilizing adrenal hyperplasia. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2001;30:207–29.
57. White PC SP. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocr Rev*. 2000;21(3):245-91.
58. Holmes-Walker DJ CG, Honour JW, Rumsby G, Jacobs HS. Menstrual disturbance and hypersecretion of progesterone in women with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1995;43(3):291-6.
59. Feldman S BL, Thalabard JC, et al. Fertility in women with late-onset adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1992; 74:635.
60. Casteras A DSP, Rumsby G, et al. Reassessing fecundity in women with classical congenital adrenal hyperplasia (CAH): normal pregnancy rate but reduced fertility rate. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009;70:833.
61. MI N. Extensive clinical experience: nonclassical 21-hydroxylase deficiency. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2006;91(11):4205-14.

62. McCann-Crosby B CM, Lyons SK, Lin Y, Axelrad M, Dietrich JE, Sutton VR, Macias CG, Gunn S, Karaviti L. Nonclassical congenital adrenal hyperplasia: targets of treatment and transition. *Pediatr Endocrinol Rev* 2014;12(2):224-38.
63. Janzen N PM, Sander S, Steuerwald U, Terhardt M, Holtkamp U, et al. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia: additional steroid profile using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2007;92(7):2581-9.
64. Van der Kamp HJ OC, Elvers BH, Van Baarle M, Otten BJ, Wit JM, et al. Cutoff levels of 17-hydroxyprogesterone in neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia should be based on gestational age rather than on birth weight. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(7):3904-7.
65. Homma K HT, Takeshita E, Watanabe K, Anzo M, Toyoura T, et al. Elevated urine pregnanetriolone definitively establishes the diagnosis of classical 21-hydroxylase deficiency in term and preterm neonates. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:6087-91.
66. Ishii T AM, Adachi M, Onigata K, Kusuda S, Nagasaki K et al. Guidelines for diagnosis and treatment of 21-hydroxylase deficiency. *Clin Pediatr Endocrinol*. 2015;24(3): 77-105.
67. Azziz R DD, Owerbach D. Nonclassical adrenal hyperplasia: Current concepts. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;78(4):810-5.
68. New MI LF, Lerner AJ et al. Genotyping steroid 21-hydroxylase deficiency: hormonal reference data. *J Clin Endocrinol Metab*. 1983;57:320-6.
69. Bachege TASS BE, Billerbeck AEC et al. Variable ACTH-stimulated 17-hydroxyprogesterone values in 21-hydroxylase deficiency carriers are not related to the different CYP21 gene mutations. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:786-90.
70. Bachege TASS BA, Marcondes JAM et al. Influence of different genotypes on 17-hydroxyprogesterone levels in patients with nonclassical congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Clin Endocrinol*. 2000;52:601-7.
71. AL. RLMGC. Cribado neonatal de la hiperplasia suprarrenal congénita. Aplicabilidad en Galicia. Santiago de Compostela: Servicio Galego de Saúde, Axencia de Avaliación de Tecnoloxías Sanitarias de Galicia. avalia-t. 2004;Serie Avaliación de Tecnoloxías. Informes; INF2004/03.
72. Wilson JMG JG. Principles and Practice of Screening for Disease, World Health Organization. 1968.
73. Pang S HJ, Drash AL, Levine LS, New MI. Microfilter paper method for 17 alpha-hydroxyprogesterone RIA: its application for rapid screening for congenital adrenal hyperplasia. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1977;45:1003-8.
74. E D. La incidencia en España de la hiperplasia adrenal congénita (CAH). . *Prevención de Enfermedades Metabólicas* 1989;3:11-3.
75. Cavarzere P CM, Teofoli F, Tatò L. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia in North-Eastern Italy: a report three years into the program. *Horm Res*. 2005;63(4):180-6.
76. Coulm B CJ, Tardy V, Ecosse E, Roussey M, Morel Y. Efficiency of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency in children born in mainland France between 1996 and 2003. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2012;166(2):113-20.
77. Therrell BL BS, Manter-Kapanke V, Simmank J, Korman K, Prentice L. Results of screening 1.9 million Texas newborns for 21-hydroxylase-deficient congenital adrenal hyperplasia. *Pediatrics*. 1998;101(4):583-90.
78. M S. High Reliability of Neonatal Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia in Switzerland. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(9):4106-10.
79. Van der Kamp HJ NK, Elvers B, Van Baarle M, Otten BJ, Verkerk PH. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in the Netherlands. *Pediatrics*. 2001;108(6):1320-4.
80. Balsamo A CE, Piazzì S, Cassio A, Bozza D, Pirazzoli P. Congenital adrenal hyperplasia: neonatal mass screening compared with clinical diagnosis only in the Emilia-Romagna region of Italy, 1980-1995. *Pediatrics*. 1996;98(3):362-7.

81. Hayashi G FC, Brondi MF, Vallejos C, Soares D, Oliveira E. Weight-adjusted neonatal 17OH-progesterone cutoff levels improve the efficiency of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. *Arq Bras.* 2011;55(8):632-7.
82. Lacey JM MC, Magera MJ, Tauscher AL, Casetta B, McCann M. Improved specificity of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia by second-tier steroid profiling using tandem mass spectrometry. *Clin Chem.* 2004;50(3):621-5.
83. Janzen N PM, Sander S, Steuerwald U, Terhardt M, Holtkamp U. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia: additional steroid profile using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(7):2581-9.
84. Minutti CZ LJ, Magera MJ, Hahn SH, McCann M, Schulze A. Steroid profiling by tandem mass spectrometry improves the positive predictive value of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(8):3687-93.
85. Dressendorfer R SC, Bidlingmaier F, et al. Development of a highly sensitive nonisotopic immunoassay for the determination of salivary 17-hydroxyprogesterone: reference ranges throughout childhood and adolescence. *Pediatr Res* 1998;44:650-5.
86. Van der Kamp HJ OC, Elvers BH, Vaharle MVB, Otten BJ, Wit JM et al. Cutoff Levels of 17- α -Hydroxyprogesterone in neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia should be based on gestational age rather than on birth weight. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(7):3904-7.
87. Speiser PW, Azziz R, Baskin LS. Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21-hydroxylase deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2010;95(9):4133-60.
88. Honour JW TT. Evaluation of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. *Horm Res.* 2001;55(4):206-11.
89. Brosnan CA BP, Swint JM. Analyzing the cost of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. *Pediatrics.* 2001;107(5):1238.
90. Grosse SD VVG. How many deaths can be prevented by newborn screening for congenital adrenal hyperplasia? *Horm Res.* 2007;67(6):284-91.
91. Joint LWPES/ESPE CAH Working Group. Consensus Statement on 21-Hydroxylase Deficiency from The Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society and The European Society for Paediatric Endocrinology. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2002;87(9):4048-53.
92. Rodríguez Arnao MD RSA, Dulín Iñiguez E. Detección precoz de alteraciones endocrinas. *Rev Esp Endocrinol Pediatr* 2013;4(Suppl(1)):87-100.
93. Perrin C. White DG, Barbara J. Onufer, David D. Chaplint, Maria I. News, Bo Dupont, and Jack I. Strominger. Two genes encoding steroid 21-hydroxylase are located near the genes encoding the fourth component of complement in man. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985;82(4):1089-93.
94. Y Higashi HY, M Yamane, O Gotoh, and Y Fujii-Kuriyama. Complete nucleotide sequence of two steroid 21-hydroxylase genes tandemly arranged in human chromosome: a pseudogene and a genuine gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986;83(9):2841-5.
95. White PC NM, Dupont B. Structure of human steroid 21-hydroxylase genes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1986;83:5111-5.
96. Zhou Z AV, Dixit N, White P, Speiser PW. Steroid 21-hydroxylase expression and activity in human lymphocytes. *Mol Cell Endocrinol.* 1997;14:11-8.
97. Gomes LG HN, Agrawal V, Mendonça BB, Bachega TA, Miller WL. Extraadrenal 21-hydroxylation by CYP2C19 and CYP3A4: effect on 21-hydroxylase deficiency. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2009;94(1):89-95.
98. Morel Y DM, Forest MG et al. Gene conversions and rearrangements cause discordance between inheritance of forms of 21-hydroxylase deficiency and HLA types. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;68:592-9.
99. Speiser PW DJ, Zhu D et al. Disease expression and molecular genotype in congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Invest* 1992;90:584-95.

100. Ezquieta B OA, Gracia R, Gancedo PG. Analysis of steroid 21-hydroxylase gene in the Spanish population. *Hum Genet.* 1995;96:198-204.
101. Tusié-Luna MT R-JS, Ordóñez-Sánchez MI et al. Low frequency of deletion alleles in patients with steroid 21-hydroxylase deficiency in a Mexican population. *Human Genet* 1996;98:376-9.
102. Bachega TASS BA, Madureira G et al. Low frequency of CYP21B deletions in Brazilian patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Hum Hered* 1999;49:9-14.
103. Highasi Y HT, Yanae A et al. Effects of individual mutations in the P450(c21) pseudogen on the P450(c21) activity and their distribution in the patient genomes of congenital steroid 21-hydroxylase deficiency. *J Biochem* 1991;109:638-44.
104. Tusié-Luna MT SP, Dumic M et al. A mutation (Pro-30 to Leu) in CYP21 represents a potential nonclassical steroid 21-hydroxylase deficiency allele. *Mol Endocrinol* 1991;5:685-92.
105. Bachega TASS BA, Madureira G et al. Molecular genotype in Brazilian patients with classical and nonclassical forms of 21-hydroxylase deficiency. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 1998;83:4416-9.
106. Wedell A TA, Ritzén EM et al. Mutational spectrum of the steroid 21-hydroxylase gene in Sweden: implications for genetic diagnosis and association with disease manifestation. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 1994;78:1145-52.
107. Ezquieta B VJ, Jariego C, Oliver A, Gracia R. Nonisotopic detection of point mutations in the CYP21B gene in 21-hydroxylase deficiency. *Clin Chem.* 1996;42:1108-10.
108. Ezquieta B VJ, Jariego C, Oliver A, Gracia R. . Nonisotopic detection of point mutations in the CYP21B gene in 21-hydroxylase deficiency. *Clin Chem.* 1996;42:1108-10. .
109. Ezquieta Zubicaray B CLE, Varela Junquera JM, Jariego Fente C. . Aportaciones del análisis molecular en la hiperplasia suprarrenal congénita. *Acta Paediatr Esp.* 2001;59:479-96. .
110. Ezquieta B, Cueva E, Varela J, Oliver A, Fernández J, Jariego C. Non-classical 21-hydroxylase deficiency in children: association of adrenocorticotrophic hormone-stimulated 17-hydroxyprogesterone with the risk of compound heterozygosity with severe mutations. *Acta Paediatr.* 2002;91:892-8.
111. Ezquieta B, Beneyto M, Muñoz-Pacheco R, Barrio R, Oyarzábal M, Lechuga JL, et al. Gene duplications in 21-hydroxylase deficiency: the importance of accurate molecular diagnosis in carrier detection and prenatal diagnosis. *Prenat Diagn.* 2006;26:1172-8.
112. Ezquieta B CE, Oyarzabal M et al. Gene conversión (655G splicing mutation) and the founder effect (Gln3218stop) contribute to the most frequent severe point mutations in congenital adrenal hyperplasia (21-hydroxylase deficiency) in the Spanish population. *Clin Genet.* 2002;62:181-8.
113. Krone N BA, Roscher AA, Knorr D, Schwarz P. . Predicting phenotype in steroid 21-hydroxylase deficiency: comprehensive genotyping in 155 unrelated, well defined patients from Southern Germany. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2000;85:1059-65.
114. Wilson RC MA, Cheng KC, New MI. Steroid 21-hydroxylase deficiency: genotype may not predict phenotype. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 1995;80:2322-9.
115. Mellon SH MW. Extraadrenal steroid 21-hydroxylation is not mediated by P450c21. *J Clin Invest* 1989;84:1497-502.
116. WL M. Genetics, diagnosis and management of 21-hydroxylase deficiency. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 1994;78:241-6.
117. Wilkins L LR, Klein R, Rosemberg E. The suppression of androgen secretion by cortisone in a case of congenital adrenal hyperplasia. *Bull Johns Hopkins Hosp.* 1950;86(4):249-52.
118. Kerrigan JR VJ, Leyo SA, Iranmanesh A, Rogol AD. Estimation of daily cortisol production and clearance rates in normal pubertal males by deconvolution analysis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 1993;76(6):1505-10.
119. Metzger DL WN, Veldhuis JD, Rogol AD, Kerrigan JR. Characterization of pulsatile secretion and clearance of plasma cortisol in premature and term neonates using deconvolution analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;77(2):458-63.

120. Javed A LA, Kumar S. Update on treatment strategies for optimization of final adult height in children with congenital adrenal hyperplasia. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2012;10(1):164-73.
121. JI Labarta AA, Á Ferrández. HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA. *Protoc diagn ter pediatr.* 2011;1:117-28.
122. Bercovici JP FJ, Gibault L, Volant A, Abalain JH, Floch HH et al. Testicular adrenal rest tumours in salt wasting congenital adrenal hyperplasia (in vivo and in vitro studies). *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2005;93(1):67-72.
123. Nordenskjöld A, Holmdahl G, Frisé'n L, Falhammar H, Filipsson H, Thoren M, et al. Type of mutacion and surgical procedure affect long-term quality of life for women with congenital adrenal hyperplasia. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2008;93:380-6.
124. Nordenström A, Frisé'n L, Falhammar H, Filipsson H, Holmdahl G, Janson P. O, et al. Sexual function and surgical outcome in women with congenital adrenal hyperplasia due to CYP21A2 deficiency: clinical perspective and the patient'perception. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:3633-40.
125. Nerموen I, Husebye ES, Svartberg J, Lova's K. Subjective health status in men and women with congenital adrenal hyperplasia:a population-based survey in Norway. *Eur J Endocrinol.* 2010;163:453-9.
126. Johannsen TH RC, Mortensen EL, Main KM,. Quality of life in 70 women with disorders of sex development. *Eur J Endocrinol.* 2006;155(6):877-85.
127. Mulaikal RM MC, Rock JA. Fertility rates in female patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *N Engl J Med.* 1987;316(4):178-82.
128. AA E. Androgens in prenatal development: behavior changes in nonhuman primates and men. *Adv Biosci.* 1974;13:153-62.
129. Lewis VG EA, Money J. Genital operations in girls with the adrenogenital syndrome--subsequent psychologic development. *Obstet Gynecol.* 1970;36(1):11-5.
130. New MI TY, Yuen T, Jiang P, Pina C, Chan KCA. Noninvasive prenatal diagnosis of congenital adrenal hyperplasia using cell-free fetal DNA in maternal plasma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99:1022-30.
131. Rodríguez A EB, Labarta JI, Clemente M, Espino R, Rodríguez A, Escribano A. Recomendaciones para el diagnóstico y tratamiento de pacientes con formas clásicas de hiperplasia suprarrenal congénita por déficit de 21-hidroxilasa 2017;87(2):116.e1-e10.
132. Hernández M. El patrón de crecimiento humano y su evaluación. In: Pombo M, editor. *Tratado de Endocrinología Pediátrica.* 4ª ed. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana de España SAU; 2009. p. 152-74.
133. Karlberg J. A biologically-oriented mathematical model (ICP) for human growth. *Acta Paediatr Scand.* 1989;(Suppl. 350):70-94.
134. Murcia-Lemauviel S L-AJ, Ferrández-Longás A. Retraso puberal *An Pediatr Contin.* 2006;4(2):88-94.
135. Pozo Román J. Crecimiento normal y talla baja. *Pediatr Integral.* 2015;XIX(6):411-23.
136. De Luca F. Impaired growth plate chondrogenesis in children with chronic illnesses. *Ped Res.* 2006;59:625-9.
137. Kawano A KH, Miyako K. A Retrospective Analysis of the Growth Pattern in Patients with Salt-wasting 21-Hydroxylase Deficiency. *Clin Pediatr Endocrinol.* 2014;23(2):27-34.
138. Beynon J QC. Steroid-induced osteoporosis. *Community Nurse.* 1997;2(11):22-4.
139. JD A. Corticosteroid-induced osteoporosis. *Am J Med Sci.* 1997;313(1):41-9.
140. Martul P PJ, Dieguez C, Casanueva FF. Corticoid-induced growth hormone (GH) secretion in GH-deficient and normal children. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 1992;75(2):536-9.
141. Bizzarri C IN, Maggioli C, Capalbo D, Roma S, Porzio O, Salerno M, Cappa M. Hydrocortisone therapy and growth trajectory in children with classical congenital adrenal hyperplasia. *Endocr Pract.* 2017;23(5):546-56.

142. Klingensmith GJ GS, Jones HW, Migeon CJ, Blizzard RM. Glucocorticoid treatment of girls with congenital adrenal hyperplasia: effects on height, sexual maturation, and fertility. *J Pediatr*. 1977;90(6):996-1004.
143. Pescovitz OH CF, Cassorla F, Dwyer AJ, Poth MA, Sperling MA, et al. True precocious puberty complicating congenital adrenal hyperplasia: treatment with a luteinizing hormone-releasing hormone analog. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1984;58(5):857-61.
144. Mora S SF, Russo G, Weber G, Bellini A, Prinster C, et al. Bone density in young patients with congenital adrenal hyperplasia. *Bone*. 1996;18(4):337-40.
145. Gussinyé M CA, Potau N, Enrúbia M, Vicens-Calvet E, Ibáñez L, Yeste D. Bone mineral density in prepubertal and in adolescent and young adult patients with the salt-wasting form of congenital adrenal hyperplasia. *Pediatrics*. 1997;100(4):671-4.
146. Cornean RE HP, Brook CG. Obesity in 21-hydroxylase deficient patients. *Arch Dis Child*. 1998;78(3):261-3.
147. Charmandari E WM, Bornstein SR, Eisenhofer G, Keil MF, Chrousos GP, Merke DP. Children with classic congenital adrenal hyperplasia have elevated serum leptin concentrations and insulin resistance: potential clinical implications. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2002;87(5):2114-20.
148. Hagenfeldt K MRE, Ringertz H, Helleday J, Carlström K. Bone mass and body composition of adult women with congenital virilizing 21-hydroxylase deficiency after glucocorticoid treatment since infancy. *Eur J Endocrinol*. 2000;143(5):667-71.
149. Stikkelbroeck NM OW, van der Wilt GJ, Hermus AR, Otten BJ. Normal bone mineral density and lean body mass, but increased fat mass, in young adult patients with congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(3):1036-42.
150. Deneuve C KF. Hyperandrogenism and fertility. *Ann Endocrinol (Paris)*. 1998;59(4):311-8.
151. Swyer GIM BD. Successful pregnancy in a female pseudohermaphrodite. *BR Med J*. 1961;1:1005-6.
152. Jääskeläinen J HM, Kiekara O, Voutilainen R. Child rate, pregnancy outcome and ovarian function in females with classical 21-hydroxylase deficiency. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2000;79:687-92.
153. Jääskeläinen J TA, Voutilainen R. Sexual function and fertility in adult females and males with congenital adrenal hyperplasia. *Horm Res*. 2001;56(3-4):73-80.
154. Urban MD LP, Migeon CJ. Adult height and fertility in men with congenital virilizing adrenal hyperplasia. *N Engl J Med*. 1978;299(25):1392-6.
155. Russo G PP, Taccagni G, Maschio A, Chiumello G. Ovarian adrenal-like tissue in congenital adrenal hyperplasia. *N Engl J Med*. 1998;339:853-4.
156. Cabrera MS VM, New MI. Long term outcome in adult males with classic congenital adrenal hyperplasia 2001;86:3070-8.
157. Stikkelbroeck N OB, Pasic A, Jager GJ, Sweep C, Noordam K, Hermus AR. High prevalence of testicular adrenal rest tumors, impaired spermatogenesis, and Leydig cell failure in adolescent and adult males with congenital adrenal hyperplasia. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001;86:5721-8.
158. Ávila NA ST, Jones JV, Cutler GB Jr, Merke DP. Testicular adrenal rest tissue in congenital adrenal hyperplasia: serial sonographic and clinical findings. *Am J Roentgenol*. 1999;172:1235-8.
159. Srikanth MS WB, Ishitani M, Isaacs H Jr, Applebaum H, Costin G. Benign testicular tumors in children with congenital adrenal hyperplasia. *J Pediatr Surg*. 1992;27(5):639-41.
160. Rutgers JL YR, Scully RE. The testicular tumor of the adrenogenital syndrome. A report of six cases and review of the literature on testicular masses in patients with adrenocortical disorders. *Am J Surg Pathol*. 1988;12:503-13.
161. Cutfield RG BJ, Odell WD. Infertility caused by bilateral testicular masses secondary to congenital adrenal hyperplasia (21-hydroxylase deficiency). *Fertil Steril*. 1983;40:809-13.

162. Rich MA KM, Levin HS, Kay R. Tumors of the adrenogenital syndrome: an aggressive conservative approach. *J Urol*. 1998;160:1838-41.
163. Orduña Espinosa R FSM, Vilchez Joya R, Perán Mesa M, Escobar Jimenez F. Asociación de hiperplasia adrenal congénita por déficit parcial de 21 hidroxilasa y tumor testicular bilateral. *Med Clin (Barc)*. 1986;87:417-20.
164. Walker BR SS, Winslow BH, Canning DA, Tank ES. Testis sparing surgery for steroid unresponsive testicular tumors of the adrenogenital syndrome. *J Urol* 1997;157:1460-3.
165. Ogilvie CM CN, Rumsby G, et al. Congenital adrenal hyperplasia in adults: a review of medical, surgical and psychological issues. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006;64:2.
166. Hughes IA HC, Ahmed SF. Consensus statement on management of intersex disorders. *Arch Dis Child* 2006;91:554-63.
167. Lee PA HC, Ahmed SF, Hughes IA. Consensus statement on management of intersex disorders. *Pediatrics*. 2006;118:488-500.
168. Ahmed SF RM. Investigation and initial management of ambiguous genitalia. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2010;24:197-218.
169. Frisén L NA, Falhammar H, Filipsson H, Holmdahl G, Janson PO, Thorén M, Hagenfeldt K, Möller A, Nordenskjöld A. . Gender Role Behavior, Sexuality, and Psychosocial Adaptation in Women with Congenital Adrenal Hyperplasia due to CYP21A2 Deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94:3432-9.
170. Dessens AB SF, Drop SLS. Gender dysphoria and gender change in chromosomal females with congenital adrenal hiperplasia. *Arch Sex Behav* 2005;34:389-97.
171. Pasterski V ZK, Hindmarsh PC, Hughes IA, Acerini C, Spenser D, Neuleki S, Hines M. . Increased Cross-Gender Identificaction independent of Gender Role Behavior in girls with Congenital Adrenal Hyperplasia: results from a standardized assessment of 4-10 years old children. *Arch Sex Behav* 2015;44:1363-75.
172. Sell RL WJ, Wypij D. The prevalence of homosexual behavior and attraction in the United States, the United Kingdom and France: results of national population-based samples. *Arch Sex Behav*. 1995;24(3):235-48.
173. González R LB. Should CAH in Females Be Classified as DSD? . *Front Pediatr* 2016;4:48.
174. Houk CP LP. Approach to Assigning Gender in 46,XX Congenital Adrenal Hyperplasia with Male External Genitalia: Replacing Dogmatism with Pragmatism. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:4501-8.
175. Gorski RA HR, Jacobson CD, Shryne JE, Southam AM. Evidence for the existence of a sexually dimorphic nucleus in the preoptic area of the rat. *J Comp Neurol*. 1980;193(2):529-39.
176. Imperato-McGinley J GL, Gautier T, Peterson RE. Steroid 5alpha-reductase deficiency in man: an inherited form of male pseudohermaphroditism. *Science*. 1974;186(4170):1213-5.
177. Schumacher M LJ, Balthazart J. Steroid hormones, behavior and sexual dimorphism in animals and men: the nature-nurture controversy. *Exp Clin Endocrinol*. 1987;90(2):129-56.
178. Leight KR. Commentary on 'How many deaths can be prevented by newborn screening for congenital adrenal hyperplasia?' by Grosse and Van Vliet, *Hormone Research*, 2007;67:284-291. *Horm Res*. 2007;68(4):195; author reply 203.
179. Morikawa S, Nakamura A, Fujikura K, Fukushi M, Hotsubo T, Miyata J, et al. Results from 28 years of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in sapporo. *Clin Pediatr Endocrinol*. 2014;23(2):35-43.
180. Chan CL, McFann K, Taylor L, Wright D, Zeitler PS, Barker JM. Congenital adrenal hyperplasia and the second newborn screen. *J Pediatr*. 2013;163(1):109-13.e1.
181. Coulm B, Coste J, Tardy V, Ecosse E, Roussey M, Morel Y, et al. Efficiency of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency in children born in mainland France between 1996 and 2003. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*. 2012;166(2):113-20.

182. Strnadova KA, Votava F, Lebl J, Muhl A, Item C, Bodamer OA, et al. Prevalence of congenital adrenal hyperplasia among sudden infant death in the Czech Republic and Austria. *European journal of pediatrics*. 2007;166(1):1-4.
183. Grunheiro-Papendieck L, Chiesa A, Mendez V, Prieto L. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia: experience and results in Argentina. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism : JPEM*. 2008;21(1):73-8.
184. Khalid JM, Oerton JM, Dezateux C, Hindmarsh PC, Kelnar CJ, Knowles RL. Incidence and clinical features of congenital adrenal hyperplasia in Great Britain. *Arch Dis Child*. 2012;97(2):101-6.
185. Hird BE, Tetlow L, Tobi S, Patel L, Clayton PE. No evidence of an increase in early infant mortality from congenital adrenal hyperplasia in the absence of screening. *Arch Dis Child*. 2014;99(2):158-64.
186. Kaye CI, Accurso F, La Franchi S, Lane PA, Hope N, Sonya P, et al. Newborn screening fact sheets. *Pediatrics*. 2006;118(3):e934-63.
187. Efectividad clínica del cribado neonatal de los errores congénitos del metabolismo mediante espectrometría de masas en tándem. Revisión sistemática. Ministerio de sanidad y consumo. 2007.
188. Greulich WW PS. Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist. 2nd Edition ed. Standford (California): Standford University Press; 1959.
189. Hernández M CJ, Narvaiza JL, Rincón JM, Ruiz I, Sánchez E, Sobradillo B, Zurimendi A. Instituto de Investigación sobre Crecimiento y Desarrollo. Fundación Faustino Orbegozo. Curvas y tablas de crecimiento (0-18 años). Bilbao1988.
190. Dulin- Iniguez E EM, Eguileor-Gurtubai I Programas de cribado neonatal. *An Pediatr Contin*. 2006;4(1):61-5.
191. Prader A, Gurtner HP. [The syndrome of male pseudohermaphroditism in congenital adrenocortical hyperplasia without overproduction of androgens (adrenal male pseudohermaphroditism)]. *Helv Paediatr Acta*. 1955;10(4):397-412.
192. JM T. Growth and adolescence. 2nd ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1962.
193. Ezquieta B SL, Barrio R, Barrionuevo JL, López-Siguero JP, Oliver A, Ramírez J, Rodríguez I, Muñoz-Pacheco R. Carrier detection and prenatal diagnosis of congenital adrenal hyperplasia must identify 'apparently mild' CYP21A2 alleles which associate neonatal salt-wasting disease. *Prenat Diagn*. 2010;30(8):758-63.
194. Bert N VBM, Otten BJ, Verkerk PH. . Cribado neonatal de la hiperplasia suprarrenal congénita en Holanda. *Pediatrics (ed esp)* 2001;52:373-7.
195. Sánchez-Ventura JG. Cribado neonatal de metabopatías congénitas. *JANO* 2003;65:745-53.
196. Allen D FP. Newborn screening: principles and practice. *Adv Pediatr*. 1996;43:231-70.
197. Pang S WM, Hoffmann L, Thuline H, Dorch C, Lyon I, et al. Worldwide experience in newborn screening for classical congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Pediatrics* 1988;81:866-74.
198. Clayton PE MW, Oberfield SE, Ritzen EM, Sippell WG, Speiser PW, Joint LWPES/ESPE CAH Working Group. Consensus statement on 21-hydroxylase deficiency from the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society and the European Society for Paediatric Endocrinology. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2002;87:4048-53.
199. Asociación Española de Cribado Neonatal (AECNE). Programas de cribado neonatal en España [Internet]. Bilbao: 2012. Disponible en: www.aecne.es.
200. RJ P. Introducing new screens: why are we all doing different things? *J Inherit Metab Dis* 2007;30(4):423-9.
201. Bodamer OA HG, Lindner M. . Expanded newborn screening in Europe. *J Inherit Metab Dis*. 2007;30(4):439-44.
202. Sackett D HR, Guyatt G, Tugwell P. . Diagnóstico precoz. In: *Epidemiología clínica Ciencia básica para la medicina clínica*. México, DF: Editorial Médica Panamericana. 1991:158-75.

203. Thil'en A NA, Hagenfeldt L, von Döbeln U, Guthenberg C, Larsson A. Benefits of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia (21-hydroxylase deficiency) in Sweden. *Pediatrics*. 1998;101(4).
204. Cutfield WS WD. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in New Zealand. *J Pediatr* 1995;126(1):118-21.
205. Varness TS AD, Hoffman GL. . Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia has reduced sensitivity in girls. . *J Pediatr*. 2005;147(4):493-8.
206. Schoos R VA, Bourguignon J-P, Koulischer L. Les programmes de dépistage systématique en néonatalogie. Aspects pharmaco-économiques. *Rev Med Liege*. 1998;53(5):311-5.
207. Olgemöller B RA, Liebl B, Fingerhut R. Screening for congenital adrenal hyperplasia: adjustment of 17-hydroxyprogesterone cut-off values to both age and birth weight markedly improves the predictive value. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2003;88(12):5790-4.
208. Gruñeiro-Papendieck L PL, Chiesa A, Bengolea S, Bossi G, Bergadá C. Neonatal screening program for congenital adrenal hyperplasia: adjustments to the recall protocol. *Horm Res*. 2001;55(6):271-7.
209. Gruñeiro de Papendieck L PL, Chiesa A, Bengolea S, Bergadá C. Congenital adrenal hyperplasia and early newborn screening: 17 alpha-hydroxyprogesterone (17 alpha-OHP) during the first days of life. *J Med Screen* 1998;5(1):24-6.
210. Allen DB HG, Fitzpatrick P, Laessig R, Maby S, Slyper A. Improved precision of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia using weight-adjusted criteria for 17-hydroxyprogesterone levels. *J Pediatr*. 1997;130(1):128-33.
211. Nordenström A WA, Hagenfeldt L, Marcus C, Larsson A. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia: 17-hydroxyprogesterone levels and CYP21 genotypes in preterm infants. *Pediatrics*. 2001;108(4):68.
212. King JL NJ, Hopkin RJ, Repaske DR, Bailey L, Leslie ND. Antenatal corticosteroids and newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2001;155(9):1038-42.
213. Working Group on Neonatal Screening of the European Society for Paediatric Endocrinology. Procedure for neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Horm Res*. 2001;55(4):201-5.
214. Terai I YK, Ichihara N, Arai J, Kobayashi K. Influence of spironolactone on neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*. 1999;81(3):179-83.
215. Chu SY TW, Chen LH, Wei ML, Chien YH, Hwu WL. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia in Taiwan: a pilot study. *J Formos Med Assoc*. 2002;101(10):691-4.
216. Cartigny-Maciejewski M GN, Vanderbecken S, Gondé S, Stuckens C, Ponté C, Weill J, Farriaux JP, Paux E. Neonatal screening of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency: Lille experience 1980-1996. *Arch Pediatr*. 1999;6(2):151-8.
217. Kwon C FP. The magnitude and challenge of falsepositive newborn screening test results. *Arch Pediatr Adolesc Med Clin*. 2000;154:714-8.
218. Hingre RV GS, Hingre KS, Mayes DM, Richman RA. Adrenal steroidogenesis in very low birth weight preterm infants. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1994;78:266-70.
219. Wong T SC, Covey TR, Ellis G. Identification of the steroids in neonatal plasma that interfere with 17 alpha-hydroxyprogesterone radioimmunoassays. *Clin Chem*. 1992;38:1830-7.
220. Seo JY PH, Kim JW, Oh HJ, Yang JS, Chang YS, Park WS, Lee SY. Steroid profiling for congenital adrenal hyperplasia by tandem mass spectrometry as a second-tier test reduces follow-up burdens in a tertiary care hospital: a retrospective and prospective evaluation. *J Perinat Med*. 2014;42(1):121-7.
221. Matern D TS, Oglesbee D, Gavrillov D, Rinaldo P. Reduction of the false-positive rate in newborn screening by implementation of MS/MS-based second-tier tests: the Mayo Clinic experience (2004 –2007). *J Inherit Metab Dis*. 2007;30:585-92.

222. Schwarz E LA, Randall H, Haslip C, Keune F, Murray M, Longo N, Pasquali M. Use of steroid profiling by UPLC-MS/MS as a second tier test in newborn screening for congenital adrenal hyperplasia: the Utah experience. *Pediatr Res*. 2009;66:230-35.
223. Bonfig W SH, Schwarz HP. Growth patterns in the first three years of life in children with classical congenital adrenal hyperplasia diagnosed by newborn screening and treated with low doses of hydrocortisone. *Horm Res Paediatr*. 2011;75:32-7.
224. Jääskeläinen J VR. Growth of patients with 21-hydroxylase deficiency: an analysis of the factors influencing adult height. *Pediatr Res* 1997;41(1):30-3.
225. Balsamo A WM, Di Pasquale G, Salzano G, Baronio F, Bombaci S, De Luca F. Birth length and weight in congenital adrenal hyperplasia according to the different phenotypes. *European journal of pediatrics*. 2006;165(6):380-3.
226. Brosnan PG BC, Kemp SF, Domek DB, Jelley DH, Blackett PR et al. Effect of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*. 1999;153(12):1272-8.
227. Sack J FH, Kaiserman I, Schreiber M. 21-Hydroxylase deficiency: screening and incidence in Israel. *Horm Res*. 1997;48(3):115-9.
228. Gidlöf S FH, Thilén A, et al. One hundred years of congenital adrenal hyperplasia in Sweden: a retrospective, population-based cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2013;1(1):35-42.
229. Ferrández A ME, Guallar I, Torrijo M, Sanjuan P, Labarta J. . Screening neonatal para la detección de la hiperplasia suprarrenal congénita: ¿es necesario? *Bol Soc Ar Ped (Zar)*. 1993;23:180-2.
230. Kusuda S TK, Saisho S, Yokota I, Igarashi Y, Suwa S, et al. Japanese Society for Pediatric Endocrinology, Mass Screening Committee, and Japanese Society for Mass Screening. Guidelines for treatment of 21-hydroxylase deficiency. *J Jpn Pediatr Soc*. 1999;103:72-5.
231. Frisch H BT, Schober E, Baumgartner-Parzer S, Nowotny P, Vierhapper H. Salt wasting in simple virilizing congenital adrenal hyperplasia. *J Pediatr Endocrinol Metabg*. 2001;14(9):1649-55.
232. Fiet J GB, Raux-DeMay MC, Kuttann F, Vexiau P, Brerault JL, Couillin P, Galons H, Villette JM, Julien R, et al. Increased plasma 21-deoxycorticosterone (21-DB) levels in late-onset adrenal 21-hydroxylase deficiency suggest a mild defect of the mineralocorticoid pathway. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1989;68(3):542-7.
233. Webb EA KN. Current and novel approaches to children and young people with congenital adrenal hyperplasia and adrenal insufficiency. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2015;29:449-68.
234. WL M. Clinical review 54: Genetics, diagnosis, and management of 21-hydroxylase deficiency. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1994;78(2):241-6.
235. Muthusamy K, Elamin MB, Smushkin G, Murad MH, Lampropulos JF, Elamin KB, et al. Clinical review: Adult height in patients with congenital adrenal hyperplasia: a systematic review and metaanalysis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2010;95(9):4161-72.
236. Balsamo A CA, Baldazzi L, Barbaro M, Baronio F, Gennari M, Bal M, Cassio A, Kontaxaki K, Cacciari E. CYP21 genotype, adult height, and pubertal development in 55 patients treated for 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(12):5680-8.
237. Mullis PE HP, Brook CG. Sodium chloride supplement at diagnosis and during infancy in children with salt-losing 21-hydroxylase deficiency. *European journal of pediatrics*. 1990;150(1):22-5.
238. Brook CG ZM, Prader A, Mürset G. Experience with long-term therapy in congenital adrenal hyperplasia. *J Pediatr*. 1974;85(1):12-9.
239. Punthakee Z, Legault L, Polychronakos C. Prednisolone in the treatment of adrenal insufficiency: a re-evaluation of relative potency. *The Journal of Pediatrics*. 2003;143(3):402-5.
240. Rivkees SA CJ. Dexamethasone treatment of virilizing congenital adrenal hyperplasia: the ability to achieve normal growth. *Pediatrics*. 2000;106:767-73.
241. Bretones P RB, Pichot E, David M, Roy P, Tardy V, Kassai B, Gaillard S, Bernoux D, Morel Y, Chatelain P, Nicolino M, Cornu C; French Collaborative CAH Growth Study Group. Growth curves for

- congenital adrenal hyperplasia from a national retrospective cohort. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2016;29(12):1379-88.
242. Young MC HI. Response to treatment of congenital adrenal hyperplasia in infancy. *Arch Dis Child*. 1990;65(4):441-4.
243. Speiser PW. Medical treatment of classic and nonclassic congenital adrenal hyperplasia. *Adv Exp Med Biol*. 2011;707:41-5.
244. C.M. Trapp PWS, S.E. Oberfield. Congenital adrenal hyperplasia: An update in children. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2011;18:166-70.
245. Völkl TM SD, Körner A, Rascher W, Kiess W, Kratzsch J, Dörr HG. Does an altered leptin axis play a role in obesity among children and adolescents with classical congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency? *Eur J Endocrinol*. 2009;160(2):239-47.
246. Völkl TM SD, Dötsch J, Rascher W, Dörr HG. Altered 24-hour blood pressure profiles in children and adolescents with classical congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(12):4888-95.
247. Knorr D HdLS. Persistent obesity and short final height after corticoid overtreatment for congenital adrenal hyperplasia (CAH) in infancy. *Acta Paediatr Jpn*. 1988;30:89-92.
248. Yu AC.M GD. Adult height in women with early treated congenital adrenal hyperplasia (21-hydroxylase type): relation to body mass index in earlier childhood. *Acta Paediatr*. 1995;84:899-903.
249. Merke DP CG, Eisenhofer G, Weise M, Keil MF, Rogol AD. Adrenomedullary dysplasia and hypofunction in patients with classic 21-hydroxylase deficiency. *N Engl J Med*. 2000;343:1362-8.
250. Eugster E, Dimeglio L, Wright J, Freidenberg G, Seshadri R, Pescovitz O. Height outcome in congenital adrenal hyperplasia caused by 21-hydroxylase deficiency: a metaanalysis. *J Pediatr*. 2001;138(1):26-32.
251. DiMartino-Nardi J SE, O'Connell A, New MI. The effect of treatment of final height in classical congenital adrenal hyperplasia (CAH). *Acta Endocrinol Suppl (Copenh)*. 1986;279:305-14.
252. Kirkland RT KB, Holcombe JH, Kirkland JL, Clayton GW. The effect of therapy on mature height in congenital adrenal hyperplasia. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1978;47(6):1320-4.
253. Gori F HL, Conover CA, Khosla S. Effects of androgens on the insulin-like growth factor system in an androgen-responsive human osteoblastic cell line. *Endocrinology*. 1999;140(12):5579-86.
254. Takasawa K OM, Miyai K, Matsubara Y, Takizawa F, Onishi T, Kashimada K, Mizutani S. Initial high dose hydrocortisone (HDC) treatment for 21-hydroxylase deficiency (21-OHD) does not affect linear growth during the first three years of life. *Endocr J*. 2012;59(11):1001-6.
255. GW. C. Patterns of growth from birth to maturity in infants and children with congenital adrenal hyperplasia. *Acta Endocrinol Suppl (Copenh)*. 1986;279:295-304.
256. Silva IN KC, Cunha CF, Viana MB. . Randomised controlled trial of growth effect of hydrocortisone in congenital adrenal hyperplasia. *Arch Dis Child*. 1997;77(3):214-8.
257. Hauffa B WA, Stolecke H. Treatment and disease effects on short-term growth and adult height in children and adolescents with 21-hydroxylase deficiency. *Klin Padiatr*. 1997;209(2):71-7.
258. Gussinyé M PN, Vicens-Calvet E, Albisu MA, Yeste D, Ibáñez L, Audí L, Carrascosa A. Adult height, pattern of growth and pubertal development in patients with congenital adrenal hyperplasia, salt losing form. *Med Clin (Barc)* 1997;108(3):87-90.
259. Gasparini N DMS, Salerno M, Argenziano A, Franzese A, Tenore A. Growth pattern during the first 36 months of life in congenital adrenal hyperplasia (21-hydroxylase deficiency). *Horm Res*. 1997;47(1):17-22.
260. Hernández R DA, Marín J. Infección urinaria en el niño (1mes-14 años). *Protocolos Diagnóstico Terapeúticos de la AEP: Nefrología Pediátrica*. 2008;5:53-73.
261. Sorof JM LD, Turner J, Poffenbarger T, Portman RJ. Overweight, ethnicity, and the prevalence of hypertension in school-aged children. *Pediatrics*. 2004;113:475-82.

262. Hansen ML GP, Kaelber DC. Underdiagnosis of hypertension in children and adolescents. *JAMA*. 2007;298(8):874-9.
263. Maccabee-Ryaboy N TW, Kylo J, Lteif A, Petryk A, Gonzalez-Bolanos MT, Hindmarsh PC, Sarafoglou K. Hypertension in children with congenital adrenal hyperplasia. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2016;85(4):528-34.
264. Sartorato P ZE, Benedini S, Mariniello B, Schiavi F, Bilora F, Pozzan G, Greggio N, Pagnan A, Mantero F, Scaroni C. Cardiovascular risk factors and ultrasound evaluation of intima-media thickness at common carotids, carotid bulbs, and femoral and abdominal aorta arteries in patients with classic congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(3):1015-8.
265. Ubertini G BC, Grossi A, Gimigliano F, Ravà L, Fintini D, Cappa M. Blood Pressure and Left Ventricular Characteristics in Young Patients with Classical Congenital Adrenal Hyperplasia due to 21-Hydroxylase Deficiency. *Int J Pediatr Endocrinol* 2009;383610.
266. de Silva KS KS, Brown JJ, Jones CL, Warne GL. 24-hour ambulatory blood pressure profile in patients with congenital adrenal hyperplasia--a preliminary report. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism : JPEM*. 2004;17(8):1089-95.
267. Finkelstain GP KM, Sinaii N, Nishitani M, Van Ryzin C, Hill SC, Reynolds JC, Hanna RM, Merke DP. Clinical characteristics of a cohort of 244 patients with congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(12):4429-38.
268. Roche EF CE, Dattani MT, Hindmarsh PC. Blood pressure in children and adolescents with congenital adrenal hyperplasia (21-hydroxylase deficiency): a preliminary report. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2003;58(5):589-96.
269. Subbarayan A DM, Peters CJ, Hindmarsh PC. Cardiovascular risk factors in children and adolescents with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2014;80(4):471-7.
270. Bonfig W SH. Blood pressure, fludrocortisone dose and plasma renin activity in children with classic congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency followed from birth to 4 years of age. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2014;81(6):871-5.
271. Ferrández-Longás A. Estudio longitudinal de niños españoles normales desde el nacimiento hasta la edad adulta: datos antropométricos, puberales, radiológicos e intelectuales. Zaragoza: Fundación Andrea Prader. 2005.
272. Deslauriers JR LA, Root AW, Diamond FB, Bercu BB. Gender related differences in glucocorticoid therapy and growth outcomes among pubertal children with 21-hydroxylase deficiency congenital adrenal hyperplasia (CAH). *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2012;25(9-10):977-81.
273. Manoli I K-GC, Voutetakis A, Maniati-Christidi M, Dacou-Voutetakis C. Early growth, pubertal development, body mass index and final height of patients with congenital adrenal hyperplasia: factors influencing the outcome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2002;57(5):669-76.
274. Van der Kamp HJ OB, Buitenweg N, De Muinck Keizer-Schrama SM, Oostdijk W, Jansen M, Delemarre-de Waal HA, Vulmsa T, Wit JM. Longitudinal analysis of growth and puberty in 21-hydroxylase deficiency patients. *Arch Dis Child*. 2002;87(2):139-44.
275. Bonfig W, Bechtold S, Schmidt H, Knorr D, Schwarz HP. Reduced final height outcome in congenital adrenal hyperplasia under prednisone treatment: deceleration of growth velocity during puberty. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2007;92(5):1635-9.
276. Prader A LR, Molinari L, Issler C. Physical growth of Swiss children from birth to 20 years of age. First Zurich longitudinal study of growth and development. *Helv Paediatr Acta Suppl* 1989;52:1-125.
277. Hargitai G, Sólyom J, Battelino T, Lebl J, Pribilincová Z, Hauspie R, et al. Growth patterns and final height in congenital adrenal hyperplasia due to classical 21-hydroxylase deficiency. Results of a multicenter study. *Horm Res*. 2001;55(4):161-71.

278. Charmandari E HP, Johnston A, Brook CG. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency: alterations in cortisol pharmacokinetics at puberty. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001;86(6):2701-8.
279. Grigorescu-Sido A BM, Schulze E, Duncea I, Heinrich U. . Growth analysis in patients with 21-hydroxylase deficiency influence of glucocorticoid dosage, age at diagnosis, phenotype and genotype on growth and height outcome. *Horm Res*. 2003;60(2):84-90.
280. Merke DP KM, Jones JV, Fields J, Hill S, Cutler GB Jr. Flutamide, testolactone, and reduced hydrocortisone dose maintain normal growth velocity and bone maturation despite elevated androgen levels in children with congenital adrenal hyperplasia. . *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2000;85(3):1114-20.
281. Kovács J VF, Heinze G, Sólyom J, Lebl J, Pribilincová Z, Frisch H, Battelino T, Waldhauser F; . Middle European Workshop on Paediatric Endocrinology-Congenital Adrenal Hyperplasia Study Group. Lessons from 30 years of clinical diagnosis and treatment of congenital adrenal hyperplasia in five middle European countries. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(7):2958-64.
282. Juan L HM, Zhe S, Yanhong L, Hongshan C, Qiuli C, Jun Z, Song G, Minlian D. Near-final height in 82 Chinese patients with congenital adrenal hyperplasia due to classic 21-hydroxylase deficiency: a single-center study from China. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2016;29(7):841-8.
283. Muirhead S SC, Guyda H. Indicators of adult height outcome in classical 21-hydroxylase deficiency congenital adrenal hyperplasia. *J Pediatr*. 2002;141:247-52.
284. Young MC RJ, Hughes IA. Growth and body proportions in congenital adrenal.1989.ADC.pdf>. *Arch Dis Child*. 1989;64(1554-8).
285. Lim YJ BJ, Warne GL. Adrenal 21-hydroxylase deficiency in childhood: 25 years'experience. *J Paediatr Child Health*. 1995;31:222-7.
286. Keil MF BC, Van Ryzin C, Merke DP. Hypoglycemia during acute illness in children with classic congenital adrenal hyperplasia. *J Pediatr Nurs*. 2010;25(1):18-24.
287. David M SM, Blanc M, Nicolino M, Forest MG, Morel Y. Final height in 69 patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Arch Pediatr*. 1994;1(4):363-7.
288. HG. D. Growth in patients with classic congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Horm Res*. 2007;68:93-9.
289. CG. B. The management of classical congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1990;33(4):559-67.
290. New MI GJ, Speiser PW, del Balzo P. Growth and final height in classical and nonclassical 21-hydroxylase deficiency. *Acta Paediatr Jpn*. 1988;30. Suppl:79-88.
291. Soliman AT AM, AlSalmi I, Asfour M. Congenital adrenal hyperplasia complicated by central precocious puberty: linear growth during infancy and treatment with gonadotropin-releasing hormone analog. *Metabolism*. 1997;46(5):513-7.
292. Cameron FJ TN, Montalto J, Yong AB, Zacharin M, Best JD, Warne GL. Endocrinology and auxology of sibships with non-classical congenital adrenal hyperplasia. *Arch Dis Child*. 1996;74(5):406-11.

ANEXOS

ANEXO 1

PACIENTE N°	INICIALES	SEXO	FORMA CLÍNICA
1	RGM	Varón	Pérdida salina
2	JCVR	Varón	Pérdida salina
3	HMV	Varón	Pérdida salina
4	CVB	Varón	Virilizante simple
5	MBA	Varón	Pérdida salina
6	RBA	Mujer	Pérdida salina
7	SPS	Mujer	Pérdida salina
8	MRC	Varón	Pérdida salina
9	LTS	Mujer	Pérdida salina
10	MRG	Mujer	Virilizante simple
11	CGMV	Varón	Virilizante simple
12	DCC	Varón	Virilizante simple
13	AMBSU	Varón	Pérdida salina
14	FJJG	Varón	Virilizante simple
15	JPB	Varón	Virilizante simple
16	IGP	Varón	Pérdida salina
17	CRG	Varón	Pérdida salina
18	JSSL	Varón	Pérdida salina
19	JGN	Varón	Pérdida salina
20	AGM	Mujer	Pérdida salina
21	ADG	Mujer	Virilizante simple
22	ABG	Varón	Pérdida salina
23	RGMV	Varón	Virilizante simple
24	JCM	Varón	Pérdida salina
25	ASA	Varón	Virilizante simple
26	IMO	Varón	Pérdida salina
27	RQD	Varón	Pérdida salina
28	MNB	Varón	Pérdida salina
29	ZX	Mujer	Pérdida salina
30	ARLS	Varón	Pérdida salina
31	DBM	Varón	Pérdida salina
32	RUV	Varón	Pérdida salina
33	ADD	Varón	Pérdida salina
34	AVF	Varón	Pérdida salina
35	MLR	Varón	Pérdida salina
36	LLR	Mujer	Pérdida salina
37	AFM	Varón	Pérdida salina
38	HLC	Varón	Pérdida salina
39	JASG	Mujer	Pérdida salina
40	CRC	Mujer	Pérdida salina
41	GGP	Varón	Pérdida salina
42	CRM	Mujer	Virilizante simple
43	AGC	Varón	Pérdida salina
44	MZX	Varón	Pérdida salina
45	MJEC	Mujer	Pérdida salina
46	EUV	Mujer	Pérdida salina
47	ASL	Varón	Pérdida salina
48	SCB	Varón	Pérdida salina
49	HK	Mujer	Pérdida salina

Tabla 86. Tabla de pacientes incluidos en el estudio.