

1. INTRODUCCIÓN

1.1. CORTEZA SUPRARRENAL

La glándula suprarrenal, antaño denominada cápsula suprarrenal o cuerpo suprarrenal, fue ignorada prácticamente hasta mediados del siglo XIX, cuando Addison describió con detalle la enfermedad que lleva su nombre y la atribuyó a una disfunción o destrucción de las cápsulas suprarrenales¹.

La hipótesis según la cual las suprarrenales eran indispensables para la vida fue confirmada por Brown-Séquard, quien demostró que la suprarrenalectomía bilateral en animales les provocaba la muerte unas horas después de la operación, mientras que tras la suprarrenalectomía unilateral la muerte ocurría varios días después, probablemente como consecuencia de una infección². A principios del siglo XX, las investigaciones mostraron que era la zona cortical de la suprarrenal la indispensable para la vida, pero no la medular³. Más recientemente surge el concepto de hiperfunción de la suprarrenal y de su implicación en cuadros clínicos.

1.1.1. EMBRIOLOGÍA

La corteza suprarrenal tiene su origen en el mesodermo, en el extremo craneal del mesonefros. Durante la quinta semana del desarrollo fetal, las células mesoteliales proliferan e invaden el estroma subyacente. El blastema suprarrenal, una masa compacta, es penetrada en su cara medial por células de la cresta neural para formar la médula de la glándula. Durante la vida fetal estas células cromafines segregan únicamente noradrenalina, pero poco después del nacimiento algunas células empiezan a sintetizar adrenalina. Las primeras células mesoteliales forman la corteza suprarrenal fetal, que tiene diferente capacidad de síntesis de esteroides que la capa externa de células mesoteliales, la cual deriva de la adición de más células del mesotelio y da lugar a zonas definitivas o de corteza adulta. La glándula suprarrenal fetal, durante la décima semana del desarrollo, se rodea de células mesenquimatosas que forman la cápsula de colágeno. En este período, también tiene lugar el desarrollo de la irrigación y la innervación.

Al nacer, la corteza fetal ocupa el 80% de la glándula suprarrenal. Las zonas adultas o definitivas están incompletas y se esparcen en grupos alrededor de la periferia de la glándula. La médula suprarrenal es relativamente pequeña. Tras el nacimiento, la corteza suprarrenal disminuye de tamaño por involución degenerativa⁴ de manera que, a las 4 semanas, la zona fetal comprende sólo el 20% del total de la corteza. Algunos restos de la corteza fetal pueden persistir, pero la mayoría han desaparecido en el sexto mes⁵. Estos cambios en la estructura suprarrenal durante el período neonatal, se han observado en

muestras autopsicas por lo que pueden ser diferentes *in vivo*. La configuración suprarrenal adulta deriva de la disminución en los niveles circulantes de hormona adrenocorticotropa (ACTH)⁶. La diferenciación celular en la corteza y el desarrollo funcional en el feto parecen estar bajo el control de la hipófisis fetal.

1.1.2. ANATOMÍA

Las suprarrenales son glándulas pequeñas, de forma triangular y situadas en los polos superiores de los riñones, generalmente rodeadas completamente por tejido graso (Fig. 1.1). En la infancia, los cambios en la estructura y tamaño de la corteza suprarrenal afectan

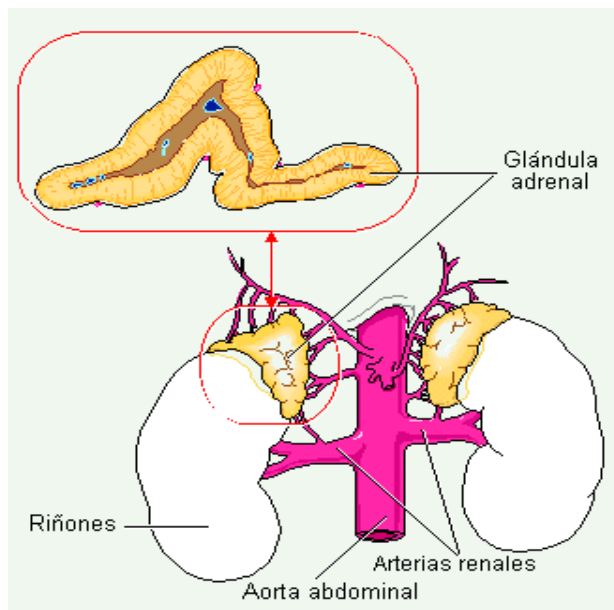


Figura 1.1: Ubicación de las glándulas Suprarrenales.

a el peso y a la función de las glándulas.

Las glándulas suprarrenales, al nacer, tienen aproximadamente un tamaño 20 veces mayor en comparación a otros órganos del adulto. Las glándulas suprarrenales del recién nacido son del mismo tamaño que sus riñones. En el niño a término, disminuyen un 30% de su peso durante las primeras semanas de vida y luego aumentan hasta adquirir, al final de la pubertad, el peso inicial que tenían al nacimiento. En el adulto, las dos

glándulas suprarrenales juntas pesan entre 8 y 12 gramos.

Cada glándula suprarrenal es irrigada por tres arterias: la suprarrenal superior, procedente de la arteria frénica inferior, la suprarrenal media, de la aorta y la suprarrenal inferior, de la arteria renal. Las arterias atraviesan la cápsula y forman un plexo capilar. Los capilares circulan a través de la corteza suprarrenal y se anastomosan para formar un plexo fuera de la médula. Estos capilares, se fusionan con capilares medulares para formar vénulas que drenan a una gran vena central. La sangre de la suprarrenal izquierda drena a la vena renal izquierda y la de la suprarrenal derecha a la vena cava inferior. El flujo sanguíneo a través de las glándulas suprarrenales puede contribuir a la regulación de la función suprarrenal, especialmente cuando la glándula suprarrenal se perfunde *in situ*⁷.

1.1.3. CITOLOGÍA

Todas las células de la corteza suprarrenal, poseen las características generales de las células productoras de esteroides. Tienen poco retículo endoplasmático rugoso, pero abundante retículo endoplasmático liso. Presentan numerosas inclusiones lipídicas y las mitocondrias suelen ser redondas o alargadas con crestas laminares.

La zona externa situada debajo de la cápsula, la zona glomerular, ocupa del 5 al 10% de la corteza. Las células forman grupos pequeños y mal definidos. Las células fasciculares son más grandes que las de la zona glomerular y forman largas cuerdas ordenadas radialmente con respecto a la médula. Los ésteres de colesterol en las células fasciculares contribuyen al color amarillento de la corteza suprarrenal.

La zona fascicular ocupa el 75% del volumen de la corteza suprarrenal de un niño de 1 a 7 años.

La zona reticular, la más interna, está formada por una red de cordones cortos de células con capilares interdigitados. Estas células tienen menos retículo endoplasmático liso y menos inclusiones lipídicas que las células de la zona fascicular, pero más lisozimas y gránulos de lipofucsina. Las mitocondrias tienden a ser más alargadas y tienen tantas crestas tubulares cortas como largas. Inicialmente se consideró a la zona reticular como el cementerio de las células de la corteza suprarrenal. Recientes estudios apoyan esta teoría⁸ que detecta cambios en la función suprarrenal al migrar las células a través de la corteza.

1.1.4. FUNCIONES DE LA CORTEZA SUPRARRENAL

Las hormonas de la corteza suprarrenal actúan sobre el metabolismo de los hidratos de carbono y en el equilibrio electrolítico. Los trabajos de Reichstein y Kendall contribuyeron a conseguir extraer varios esteroides de las glándulas suprarrenales, los cuales fueron cristalizados y caracterizados químicamente⁹.

Según la distinción histológica de las zonas de la suprarrenal, cada capa cortical produce un espectro distinto de esteroides. Mediante experimentos *in vitro*, se ha confirmado, que la aldosterona se produce únicamente en la zona glomerular.

La zona fascicular produce predominantemente cortisol, aunque también secreta esteroides como desoxicorticosterona, desoxicortisol, corticosterona y también algunos

esteroides C19 (andrógenos suprarrenales, entre los que se encuentra la 11 β -hidroxiandrostendiona).

La mayoría de esteroides suprarrenales C19 se originan en la zona reticular. Reiter *et al.* demostraron una correlación excelente entre las concentraciones plasmáticas de dehidroepiandrosterona sulfato (DHAS) y el desarrollo de la zona reticular durante la infancia¹⁰. Los andrógenos producidos en la adrenarquia contribuyen al estirón ponderal que tiene lugar a mediados de la infancia, como consecuencia del aumento de la amplitud del pico secretorio de hormona de crecimiento. La zona reticular se encuentra en pocas especies además de la especie humana.

La mayoría de los conocimientos que tenemos sobre el metabolismo de los esteroides en el feto y la placenta, en la primera mitad de la gestación, derivan de estudios con trazadores radioactivos.

A las 8 semanas de gestación, la zona fetal, utilizando pregnenolona procedente de la placenta, produce cantidades crecientes de andrógenos suprarrenales, predominantemente DHAS. En la placenta, la DHAS se convierte en estrógenos. De este modo, la placenta y la zona suprarrenal fetal actúan como un órgano endocrino integrado al que se denomina unidad feto-placentaria.

La producción de glucocorticoides y mineralcorticoides por la glándula suprarrenal fetal, depende en gran manera del sustrato de progesterona de la placenta. Una enzima clave en la producción de hormonas esteroides activas es la 3 β -hidroxisteroide deshidrogenasa que parece estar inactivada en la zona suprarrenal fetal durante la gestación. Hacia la mitad del embarazo, la zona fetal produce predominantemente desoxicorticosterona, corticosterona, 17-hidroxiprogesterona y 11-desoxicortisol en lugar de los productos finales de la suprarrenal adulta, cortisol y aldosterona. Muchos de estos productos son sulfatados. Los glucocorticoides secretados por la glándula suprarrenal fetal afectan la maduración de varios sistemas enzimáticos del hígado, páncreas y tracto gastrointestinal¹¹. En el pulmón, los glucocorticoides inducen el desarrollo de surfactante, que es muy importante en la prevención de la enfermedad de la membrana hialina en recién nacidos.

1.1.5. VÍAS DE SÍNTESIS DE ESTEROIDES

Las hormonas esteroideas de la corteza suprarrenal derivan del colesterol. La síntesis de colesterol *de novo* a partir del acetato, proporciona sólo una pequeña parte del colesterol necesario para la producción de hormonas esteroideas¹². Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) son la mayor fuente de colesterol para la glándula suprarrenal. Las LDL son introducidas en las células por endocitosis. Sobre estas lipoproteínas actúan enzimas proteolíticas y lipolíticas para liberar ésteres de colesterol que se almacenan, en inclusiones de grasa en las células suprarrenales¹³.

La figura 1.2 muestra un esquema de la esteroidogénesis suprarrenal. La división en tres rutas distintas, refleja algunas de las diferencias en la función y la regulación de cada zona y ayuda a interpretar las consecuencias clínicas de las enfermedades metabólicas de la síntesis de esteroideos.

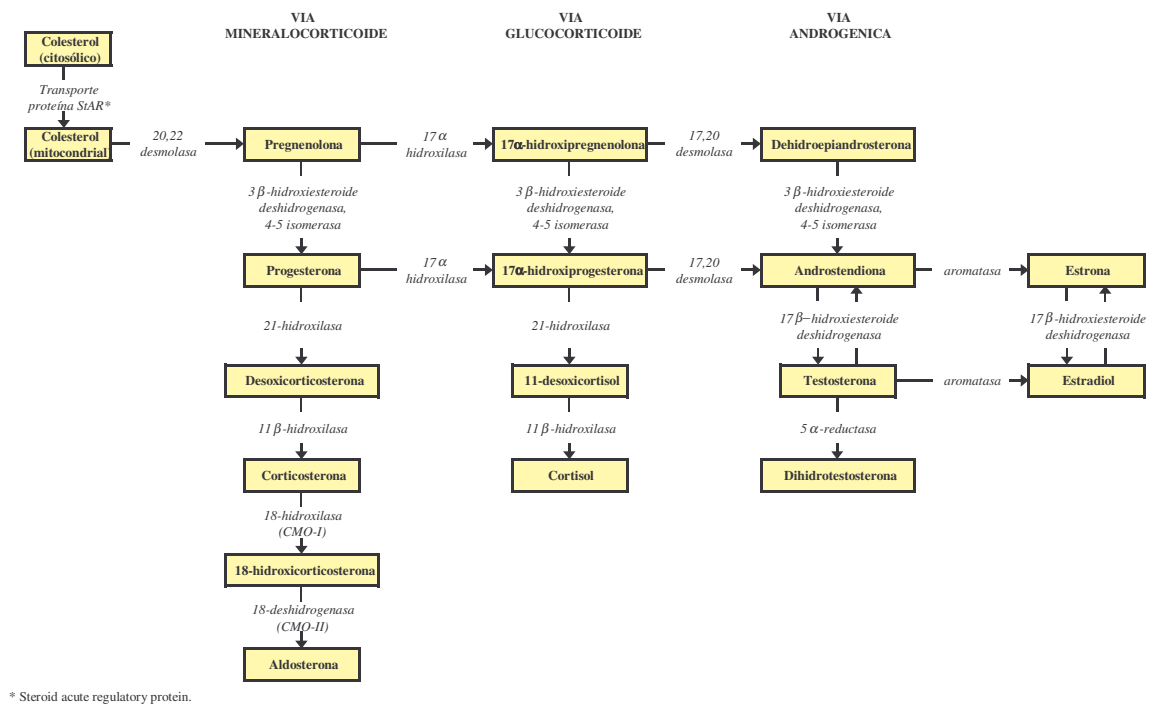
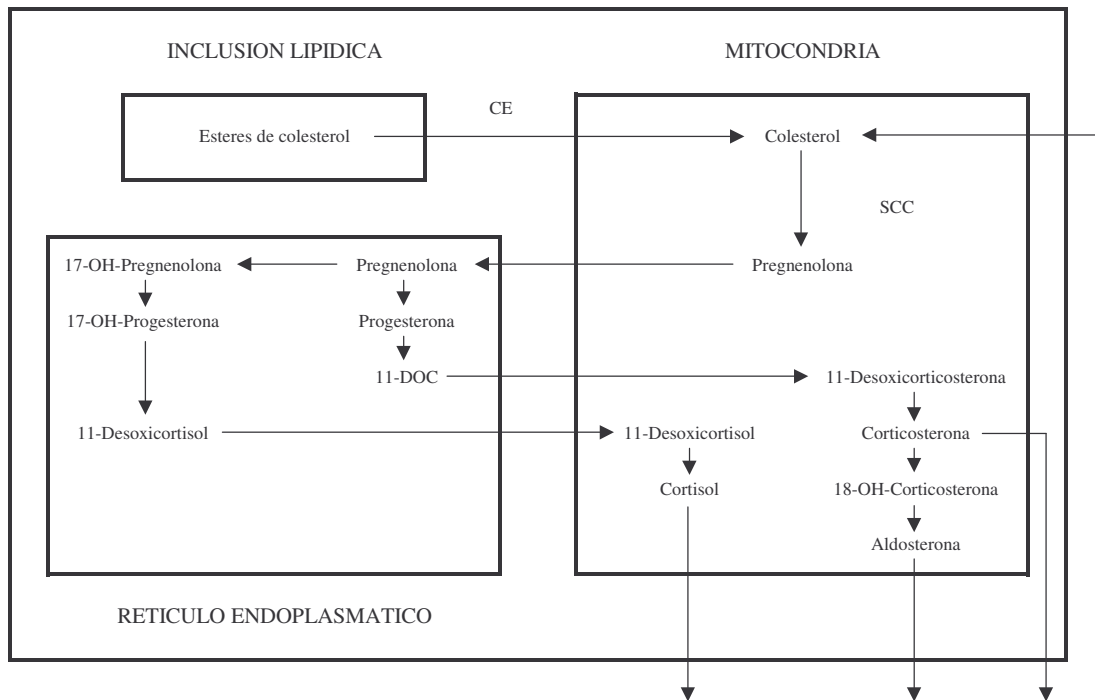


Figura 1.2: Esquema de la esteroidogénesis suprarrenal y gonadal.

Son necesarios varios cambios en la estructura del colesterol para que la corteza suprarrenal sintetice hormonas esteroideas activas. Las enzimas citocromo P-450 (cito=célula; cromo=color; P=pigmento; 450=pico de absorción a 450 nm tras reducción con el monóxido de carbono) actúan en varias de estas reacciones catalizadas por enzimas. Según las recomendaciones de la Nomenclatura Internacional, se utiliza el término CYP para los genes y P-450 para los productos. La situación de las enzimas

dentro de la célula es la responsable, de que la producción de hormonas esteroideas necesite la coordinación de los sistemas enzimáticos mitocondrial y microsomal (Fig. 1.3)¹⁴. Esta organización dentro de la célula contribuye a la regulación de la síntesis de esteroides.

La síntesis de esteroides se inicia en el interior de las membranas mitocondriales cuando el colesterol se une a la primera enzima de la vía, la enzima de escisión de la cadena lateral C27, que convierte el colesterol en pregnenolona (C21). La pregnenolona así formada pasa a las membranas microsomales, donde el grupo 3β-hidroxilo se convierte en cetona antes de que la isomerización del doble enlace complete la estructura 4-ene-3-ona característica de la mayoría de las hormonas activas. Las dos enzimas que actúan en la conversión de pregnenolona a progesterona no son



dependientes del citocromo P-450.

Figura 1.3: Organización subcelular de la esteroidogénesis

En la síntesis de corticosteroides a partir de progesterona actúa primero la 17α-hidroxilasa y después la 21-hidroxilasa. Estas enzimas son dos citocromos P-450 microsomales. La 17α se denomina comúnmente 11-desoxicortisol, y debe volver al interior de la membrana mitocondrial para que tenga lugar el último paso en la vía del

cortisol, la 11 β -hidroxilación catalizada por un típico P-450 microsomal. La 11-desoxicorticosterona (DOC) formada por la 21-hidroxilación de la progesterona, pasa a la mitocondria y tras una 11 β -hidroxilación se convierte en corticosterona. Esta se somete a una 18-hidroxilación seguida de una reacción oxidativa para formar aldosterona¹⁵.

En las zonas fascicular y reticular la progesterona es el sustrato para dos reacciones catalizadas por P-450 microsomales que dan lugar a androstendiona, que posteriormente se convertirá en testosterona. Los andrógenos se convierten en estrógenos, mediante la aromatasas P-450 que también es microsomal.

Los estrógenos suprarrenales, tienen importancia clínica sólo en casos, poco frecuentes, de tumor suprarrenal feminizante.

1.1.5.1. Vía del sulfato

La concentración de DHAS es mayor en la sangre venosa suprarrenal que en la sangre arterial que irriga las glándulas y que en la sangre periférica, lo que demuestra que este conjugado lo secreta la suprarrenal. La producción de DHAS puede darse en paralelo con la síntesis normal de esteroides libres, a partir del sulfato de colesterol a sulfato de pregnenolona y del sulfato de 17 α -hidroxipregnenolona a DHAS, utilizando las enzimas usuales¹⁶.

1.1.6. LAS ENZIMAS DE LA SÍNTESIS DE ESTEROIDES

Las hidroxilasas de esteroides son citocromos P-450 monooxigenasa, parte de una familia de enzimas hemoproteicas que activan, mediante reducción, el oxígeno molecular para insertarlo en los esteroides y otros lípidos del organismo. Los citocromos P-450 fijan sustratos lipofílicos y oxígeno molecular en el sitio activo y producen la activación mediante reducción, del oxígeno molecular. De esta manera, forman agua con un átomo de oxígeno e insertan el otro en el sustrato, con lo que éste pasa a ser más hidrofílico. El sitio activo del citocromo P-450 contiene ferroprotoporfirina-IX, que se une a varios sustratos no-polares, entre los que se incluyen compuestos fisiológicos como los esteroides, las prostaglandinas y los ácidos

grasos. Una vez realizada la reducción del hierro, el grupo hemo se convierte en el sitio de unión del oxígeno¹⁷.

El NADP (nicotinamide-adenine-dinucleotide phosphate) es el donante principal de electrones al citocromo, y la NADP-citocromo P-450 reductasa sirve como transportador en los microsomas. El sistema microsomal, a diferencia del mitocondrial, no utiliza una proteína ferrosulfurada como transportador intermediario, sino que utiliza un transporte directo de electrones por hemoflavín. Las flavoproteínas se caracterizan por contener flavín mononucleótido (FMN) y flavín adenín dinucleótido (FAD).

La transferencia de electrones y la activación de oxígeno en estos sistemas enzimáticos se inicia con la enzima férrica inactiva y continúa con:

1. El sustrato (RH) se une a P-450 para formar un complejo enzima-sustrato.
2. Transferencia del primer electrón de la reductasa.
3. Unión del oxígeno a la proteína ferrosa.
4. Transferencia del segundo electrón del NADP.
5. División del enlace O-O para producir agua.
6. Abstracción del hidrógeno del sustrato.
7. Recombinación de radicales.
8. Disociación de la enzima del producto resultante, ROH (sustrato hidroxilado).

A continuación, se recupera el estado férrico inactivo de la enzima antes de iniciar otro ciclo (Fig. 1.4).

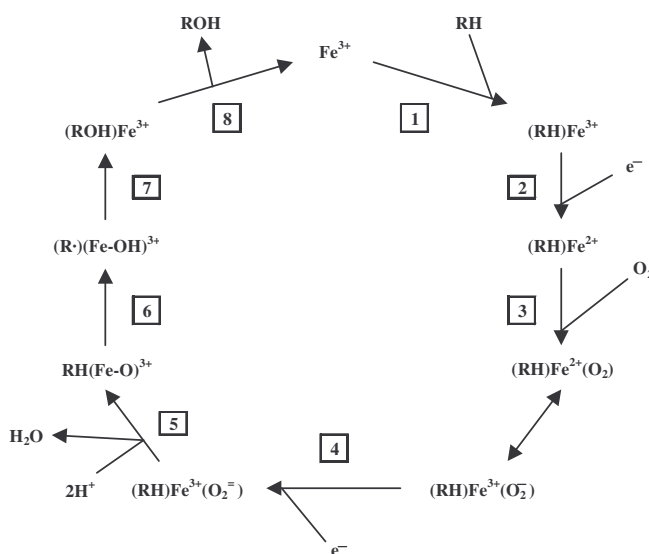


Figura 1.4 : El ciclo citocromo P-450 para hidroxilación de un sustrato RH a ROH.

1.1.6.1. Escisión de la cadena lateral C27 (20, 22 desmolasa) y formación de esteroides C21

La conversión de colesterol a pregnenolona se coordina en tres ciclos catalíticos de citocromo P450_{scc} (scc: side-chain cleavage), también denominada desmolasa 20-22, que tienen lugar en rápida sucesión. La hidroxilación del colesterol en C20 y C22 y la escisión de la cadena lateral son catalizados por la misma proteína. La P450_{scc} está localizada en la membrana interna de la mitocondria y utiliza como transportador de electrones la adrenodoxina reductasa y la adrenodoxina¹⁸. Los genes que codifican las tres proteínas implicadas en esta etapa, han sido clonados, estableciéndose su estructura génica y su localización cromosómica (Tabla I.I). La P-450_{scc} humana está codificada por un único gen localizado en el cromosoma 15; en el caso de la adrenodoxina reductasa también encontramos un único gen, mientras que hay un gen y dos pseudogenes para la adrenodoxina. Se sintetiza una gran proteína precursora que debe ser procesada por proteólisis, antes o durante la inserción a la mitocondria¹⁹.

Tabla I.I: LOCALIZACIÓN Y ESTRUCTURA DE LOS GENES CODANDO POR LAS ENZIMAS DE LA ESTEROIDOGÉNESIS

Enzimas	Localización cromosómica	Número de genes	Exones
P450 _{scc}	15q23-q24	1	9
Adrenodoxina	11q22	1	4
		2 pseudogenes	
Adrenodoxina reductasa	17q24-q25	1	-
P450 _{17α}	10q24-q25	1	8
P450 _{21B}	6p21-3	1	10
P450 _{21A}	6p21-3	pseudogen	
P450 B1	8q22	1	9
P450 B2	8q22	1	9
P450 _{aro}	15	1	9
3β-HSD	1p11-p13	Tipo I	4
	1p11-p13	Tipo II	4
		3 pseudogenes	
17β-HSD	17q11-q12	Tipo I	6
	?	Tipo II	?
	9q22	Tipo III	11
5α-reductasa	5p15	Tipo 1	5
	2p23	Tipo 2	5

El efecto capital de todas las hormonas capaces de estimular de forma aguda la producción de esteroides en las suprarrenales y gónadas, es el de aumentar la conversión de colesterol en pregnenolona. Dicha estimulación no es debida a un aumento de la actividad enzimática del complejo P450_{scc}, sino a un transporte acrecentado del colesterol desde la membrana externa, a la membrana interna de la mitocondria²⁰. Esta transferencia es bloqueada muy rápidamente por inhibidores de la síntesis proteica, lo que ha hecho postular que las hormonas actuarían estimulando la síntesis de una o varias proteínas de vida media muy corta, encargadas de la transferencia del colesterol desde el citosol hasta la membrana interna mitocondrial. Actualmente, dos factores

podrían ser responsables de esa transferencia acrecentada de colesterol entre la membrana externa y la membrana interna de la mitocondria: el receptor periférico de las benzodiazepinas y su ligado endógeno endocepina, y una proteína denominada StAR "*Steroidogenic Acute Regulatory protein*"²¹, debido a su rápida síntesis en la célula de Leydig y suprarrenal, tras estimulación con la hormona trófica correspondiente. Esta última proteína cumple varias condiciones que hacen de ella un buen candidato como transportador del colesterol: es sintetizada muy rápidamente tras estimulación hormonal y translocada a la mitocondria, su síntesis es bloqueada por la cicloheximida y es capaz de activar la primera etapa de la esteroidogénesis en sistemas heterólogos. El papel crucial de esta proteína ha sido confirmado recientemente, al demostrar que la hiperplasia congénita lipoidea de las suprarrenales, es debida a mutaciones del gen que codifica StAR²². Este gen se localiza en el cromosoma 8 y contiene 8 exones y 7 intrones. Sin embargo, esta proteína no está expresada en otros tejidos esteroidogénicos como la placenta y el sistema nervioso central, sugiriendo que otros mecanismos están implicados en el transporte del colesterol en las mitocondrias de estos tejidos. La confirmación de esta hipótesis viene dada por el hecho de que la esteroidogénesis placentaria en el feto con hiperplasia lipoidea suprarrenal parece ser normal.

1.1.6.2. Activación de esteroides mediante 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β-HSD) e isomerasa

Las enzimas responsables de la conversión de 5-ene-3β-hidroxiesteroides en sus respectivas funciones 4-ene-3-ceto se localizan principalmente en el retículo endoplasmático liso y en menor cantidad en la mitocondria. La reacción es probablemente NAD específica. La descripción de un niño con desarrollo fenotípico normal a pesar de una insuficiencia suprarrenal debida a deficiencia de 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa, sugiere la existencia de dos isoenzimas con regulación genética independiente.

En la especie humana dos genes, denominados tipo I y II, y tres pseudogenes han sido clonados²³. Los dos genes tipo I y II contienen cuatro exones y tres intrones con una longitud total de 7,8 Kb y se localizan en el cromosoma 1p11-p13. El tipo II se expresa casi exclusivamente en la suprarrenal, el ovario y el testículo, mientras que el tipo I se expresa en la placenta, la piel, el hígado y la glándula mamaria. Las dos

enzimas poseen la actividad 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa y Δ^5 - Δ^4 -isomerasa, pero la afinidad (K_M) de la enzima de tipo I es superior a la del tipo II para todos los sustratos. Así, la actividad enzimática relativa (V_{max}/K_M) del tipo I es 5,9; 4,5 y 2,8 veces más elevada que la del tipo II cuando se utilizan como sustratos la pregnenolona, la DHA y la DHT respectivamente. La débil afinidad de la enzima de tipo II, expresada principalmente en el tejido esteroidogénico (suprarrenal y gónadas), podría estar en relación con la elevada concentración de todos los sustratos endógenos en esos tejidos esteroidogénicos. Por el contrario, la fuerte afinidad de la enzima de tipo I debería facilitar la formación de esteroides Δ^4 -3-ceto en los tejidos periféricos, a pesar de la baja concentración de sustratos. Esta expresión tejido-específica de tipo II ha sido reforzada por estudios recientes que demuestran que la hiperplasia congénita con déficit en 3β -HSD se debe exclusivamente a anomalías del gen de tipo II²⁴.

1.1.6.3. Escisión de la cadena lateral C21 y formación de esteroides C19

Esta conversión implica dos etapas, hidroxilación en C-17 α y ruptura de la cadena lateral C17-C20. Ambas etapas están catalizadas por una única enzima, el citocromo P450 17 α -hidroxilasa (P450 17 α) localizado en los microsomas. En todos los mamíferos estudiados un único gen codifica el P450 17 α . En el hombre, el gen contiene 8 exones y 7 intrones y está localizado en el cromosoma 10q24-q25. El hecho de que el citocromo P450 17 α tenga las dos actividades, 17 α -hidroxilasa y 17,20-liasa, implica que la enzima desempeña un papel clave en la orientación de la esteroidogénesis hacia la biosíntesis de glucocorticoides (actividad 17 α -hidroxilasa, pero no actividad liasa) o de esteroides sexuales (presencia de las dos actividades). Estas diferencias en la actividad en una misma enzima parecen deberse a un microclima en los microsomas, pues las enzimas purificadas a partir de la suprarrenal y del testículo tienen la misma actividad, pero los microsomas suprarrenales tienen muy poca actividad liasa, mientras que esta actividad es muy importante en los microsomas testiculares. Dos factores pueden explicar dichas diferencias, la flavoproteína P450-reductasa microsomal, que es diferente de P450-adrenodoxina reductasa mitocondrial y el citocromo b5. *In vitro* estas dos proteínas aumentan la actividad liasa y su tasa en los microsomas testiculares es superior a la de los microsomas suprarrenales²⁵.

Las bases moleculares del déficit en P450 17 α han sido analizadas²⁶. La mayoría de los enfermos estudiados tenían un déficit completo combinado en 17 α -hidroxilasa y 17,20-liasa, un escaso número tenían un déficit parcial de las dos actividades y sólo uno presentaba clínicamente un déficit aislado en 17,20-liasa. Sin embargo, estos estudios no han permitido establecer una relación entre el tipo de mutación y las manifestaciones clínicas.

1.1.6.4. Hidroxilación de los esteroides en C21

La conversión de la 17 α -hidroxiprogesterona en 11-deoxicortisol y de la progesterona en 11-desoxicorticosterona (DOC) es catalizada por la misma enzima (21-hidroxilasa), el citocromo P450₂₁ que es codificado por el gen CYP21. La 21-hidroxilasa tiene un peso molecular de 52 KDa y necesita citocromo reductasa NADP-dependiente. Estudios inmunohistoquímicos han demostrado que la enzima está presente en las tres zonas de la corteza suprarrenal, con una intensidad más marcada en las zonas glomerular y reticular. El gen humano para la 21-hidroxilasa se sitúa en el brazo corto del cromosoma 6 dentro de la región que codifica el complemento C4. Parte de esta región ha sido duplicada durante la evolución, por lo que han sido identificados dos genes en el hombre^{27,28,29}: el CYP21B que codifica la citocromo P450₂₁ y el CYP21A que es un pseudogen inactivo. De esta manera, los genes para C2, BF, C4A, 21-hidroxilasa-A, C4B y 21-hidroxilasa-B se han ubicado entre HLA-B y HLA-DR (Fig. 1.5)³⁰. Una actividad 21-hidroxilasa se ha hallado en varios tejidos humanos adultos y fetales (riñón, paredes vasculares), pero es probable que esta actividad se deba a otras enzimas con actividad 21-hidroxilasa, pues el mRNA de P450₂₁ no se expresa en esos tejidos³¹. La hiperplasia suprarrenal congénita por déficit de 21-hidroxilasa se debe a anomalías del gen CYP21B.

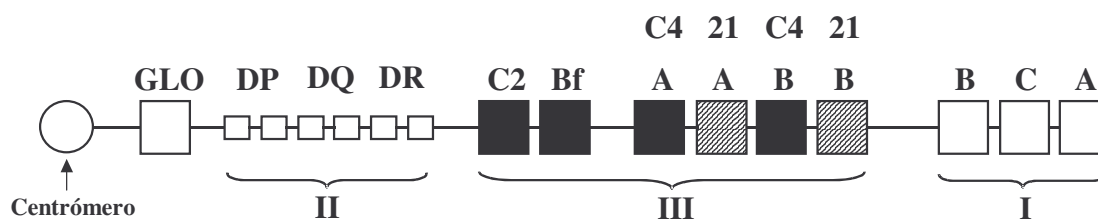


Figura 1.5: Localización de los genes 21A y 21B, dentro de la región codificadora para HLA y complemento, en el cromosoma 6.

1.1.6.5. Hidroxilación de los esteroides en C11 β y C18

En la corteza suprarrenal humana, la última etapa de la biosíntesis de aldosterona en la zona glomerular y de cortisol en la zona fascicular, está catalizada por dos enzimas codificadas por diferentes genes, ambas localizadas en el cromosoma 8q22³². En la zona glomerular una única enzima el citocromo P450_{11B2}, también denominado P540_{aldo}, P450_{CMO}, P450_{C18} o P450 aldosterona sintetasa, posee las tres actividades para transformar la 11-deoxicorticosterona en corticosterona (11 β -hidroxilasa), luego en 18-hidroxycorticosterona (18-hidroxilasa o corticosterona metiloxidasa I o CMO I) y finalmente en aldosterona (18-oxidasa o corticosterona metiloxidasa II o CMO II). Las mutaciones del gen que codifica el P450_{11B2} producen un déficit en aldosterona descrito inicialmente con el nombre de déficit en CMO II. Los estudios de transfección han demostrado que la enzima mutada tenía una actividad 11 β -hidroxilasa normal, una actividad 18-hidroxilasa disminuida y ninguna actividad 18-oxidasa³³. Esto explica que la relación 18-hidroxycorticosterona/aldosterona sea muy elevada en enfermos con este déficit enzimático.

En la zona fascicular, otra enzima, el citocromo P450_{11B1} cataliza de manera muy activa la transformación del 11-deoxicortisol en cortisol. La actividad 18-hidroxilasa de esta enzima es 10 veces más débil que la del P450_{11B2} y carece de actividad 18-oxidasa. La hiperplasia suprarrenal congénita por déficit en 11 β -hidroxilasa se debe a mutaciones de P450_{11B1}^{34,35} y se traduce por un aumento de los niveles plasmáticos del precursor del cortisol (11-deoxicortisol) y de la corticosterona (11-deoxicorticosterona). Como este último esteroide tiene actividad mineralocorticoide, los enfermos presentan en la mayoría de los casos hipertensión, hipopotasemia e hipoaldosteronismo secundario a la supresión del sistema renina-angiotensina.

Una anomalía genética responsable del hiperaldosteronismo sensible a los glucocorticoides, ha permitido precisar el papel del promotor en la regulación de la expresión de cada uno de estos genes y de la parte codificadora del gen en la actividad enzimática. La anomalía en esta enfermedad autosómica dominante se debe a una recombinación genética por *crossing-over* entre los genes que codifican el P450_{11B1} y el P450_{11B2}³⁶. Este gen híbrido contiene el promotor y los tres primeros exones de P450_{11B1} y los seis últimos exones de P450_{11B2}. Esto hace que la expresión de este gen híbrido, en la zona fascicular, esté regulada por la ACTH como el gen normal P450_{11B1},

pero con una actividad similar a la del P450_{11B2}, con una producción aumentada de aldosterona, pero también de los derivados 18-hidroxiados del cortisol. La supresión de la secreción de ACTH por los glucocorticoides exógenos, produce una disminución de la expresión del gen híbrido y la normalización de la secreción de aldosterona y de 18-hidroxycortisol.

1.1.6.6. Hidroxilación de los esteroides en C17 β

Las enzimas de esta familia son responsables de la interconversión androstendiona/testosterona, DHA/5-androsten-3 β , 17 β -diol y estrona/estradiol. La familia está formada al menos por un pseudogen y tres genes²³. La 17 β -HSD de tipo I ha sido purificada a partir del citosol de la placenta humana, el cDNA clonado y la estructura del gen determinada. El gen está localizado en el cromosoma 17 y contiene 6 exones y 5 intrones. La enzima recombinante cataliza la interconversión estrona/estradiol, y en menor grado la de DHA/androstendiol. La 17 β -HSD de tipo II ha sido clonada más recientemente a partir de la placenta humana. Esta enzima cataliza la interconversión androstendiona/testosterona, estrona/estradiol y DHT/androstendiona. Además, la enzima tiene una actividad 20 α -hidroxiesteroide deshidrogenasa que cataliza la conversión de 20 α -hidroxiprogesterona en progesterona. El mRNA que codifica esta enzima se expresa en cantidades importantes en la placenta humana, pero no en la próstata. Más recientemente han sido identificados el cDNA y el gen que codifica el tipo III de la 17 β -HSD. El gen está localizado en el cromosoma 9q22 y contiene 11 exones. La comparación con las otras dos 17 β -HSD ha mostrado una débil similitud, del orden del 23 por 100. El mRNA de esta enzima se expresa únicamente en el testículo. La enzima cataliza la conversión de androstendiona en testosterona y, con una menor afinidad, la DHA en androstendiol y la estrona en estradiol. Los pseudohermafroditismos por déficit en 17 β -HSD se deben exclusivamente a mutaciones del gen de la 17 β -HSD de tipo III³⁷.

1.1.6.7. Reducción de los esteroides en C5 α

La conversión de los esteroides 4-en-3-ceto en 5 α -dihidro-3-ceto está catalizada por la 5 α -reductasa, una enzima microsomal NADPH-dependiente. El papel mejor conocido

de esta enzima es la transformación de testosterona en DHT, andrógeno responsable de la diferenciación de los órganos genitales masculinos y de la próstata. Dos tipos de 5α -reductasa han sido aislados a partir de un banco de cDNA de próstata humana. Los dos genes contienen 5 exones y 4 intrones, pero están localizados en cromosomas diferentes: el tipo 1 en el cromosoma 5p15 y el tipo 2 en el cromosoma 2p23. Además de ciertas propiedades enzimáticas diferentes, cada enzima se expresa de manera tejido-específica e incluso en un mismo tejido en células diferentes. En el hombre, el tipo 2 se expresa en la próstata, el epidídimo y en la piel genital, mientras que el tipo 1 se expresa en el hígado y la piel no genital. Por otra parte, los déficit en 5α -reductasa se deben exclusivamente a anomalías del gen tipo 2³⁸.

1.1.6.8. Aromatización

La etapa final en la biosíntesis de estrógenos es la conversión de los esteroides C19 (androstendiona, testosterona, 16-hidroxiandrostendiona) en los esteroides C18 correspondientes (estrone, estradiol y estriol). Esta conversión está catalizada por el complejo enzimático que implica a una flavoproteína P450-reductasa y el P450_{aro}. La aromatización utiliza tres moléculas de oxígeno y tres electrones, e implica tres hidroxilaciones sucesivas a nivel del grupo metilo en C19. La última hidroxilación lleva a la pérdida de este metilo en forma de ácido fórmico. Al mismo tiempo, tiene lugar la aromatización del núcleo A. La estructura del gen humano que codifica el P450_{aro} ha sido determinada. Está localizado en el cromosoma 15 y consta de 9 exones que codifican una proteína de 419 aminoácidos. La particularidad de este gen es que utiliza diferentes promotores según el tejido³⁹.

1.1.7. CONTROL DE LA SECRECIÓN DE CORTISOL

En la corteza suprarrenal, la producción de cortisol está regulada por la ACTH. La ACTH es sintetizada por las células corticotropas a partir de un gen localizado en el cromosoma 2. La ACTH humana es un polipéptido único de 39 aminoácidos. La secuencia 1-24 es la responsable de la mayor parte de la actividad biológica de la ACTH, aunque la vida media de este fragmento, es más corta que la de la secuencia completa (10 minutos). La ACTH se secreta por la hipófisis en picos irregulares a lo

largo del día. Las concentraciones plasmáticas de cortisol tienden a aumentar y disminuir de manera coincidente (Fig. 1.6). Los picos de ACTH son más frecuentes en la madrugada y menos frecuentes por la tarde. Los traumatismos, la sobrecarga emocional y ciertos fármacos estimulan la secreción de hormona liberadora corticotropa (CRH) por terminaciones nerviosas en el hipotálamo posterior y eminencia media. Este péptido fue aislado del hipotálamo de oveja y se ha determinado su secuencia de 41 aminoácidos. La CRH se transmite por los vasos del sistema portal hipófisis-hipotálamo a la adenohipófisis, y produce liberación de ACTH.

La hipoglucemia inducida por insulina, la vasopresina, los pirógenos bacterianos y el glucagón estimulan la secreción de ACTH y son la base de las pruebas de reserva hipofisaria. La ACTH puede ejercer en sí misma una retroalimentación negativa de su propia liberación por la hipófisis, es lo que se denomina retroalimentación de asa corta. La

tasa de secreción de ACTH es inversamente proporcional a la concentración plasmática de cortisol (retroalimentación negativa) (Fig. 1.7). El lugar de acción del cortisol en la supresión de la secreción de ACTH parece ser el hipotálamo, inhibiendo la liberación de CRH. La actividad frenadora hipofisaria de los esteroides, es paralela a su potencia glucocorticoide. Sin embargo, la corticotropina se suprime de manera más eficaz por la medicación esteroide por la noche, cuando las concentraciones circulantes de cortisol son tan bajas como la tasa de liberación de ACTH.

La dexametasona cruza la barrera placentaria y frena la hipófisis fetal. Esta ha sido la base del tratamiento de la hiperplasia suprarrenal congénita *in útero*, para prevenir la masculinización genital anormal en casos sospechosos⁴⁰.

La ACTH resulta de la escisión de una gran proteína precursora, proopiomelanocortina (POMC) con un peso molecular de aproximadamente 30 KDa. Esta proteína contiene la secuencia de aminoácidos de hormona α -melanotropa (α -MSH), δ -lipotropina (LPH), β -endorfina, metencefalina y β -MSH. Las dos últimas

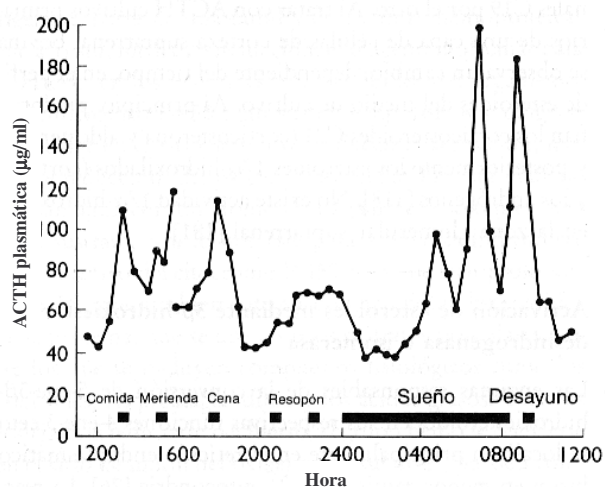


Figura 1.6: Concentraciones plasmáticas de ACTH a intervalos durante un período de 24 horas.

hormonas son neurotransmisores en el SNC, y no suelen encontrarse en la circulación general, aunque ciertos tumores pueden secretarlas junto con la ACTH. Los tumores ACTH ectópicos de pulmón, tiroides, páncreas y médula suprarrenal pueden secretar polipéptidos POMC con un peso molecular de 30.000 d a 10.000 d que contienen la secuencia de ACTH. La ACTH, puede liberarse por la acción de enzimas proteolíticas.

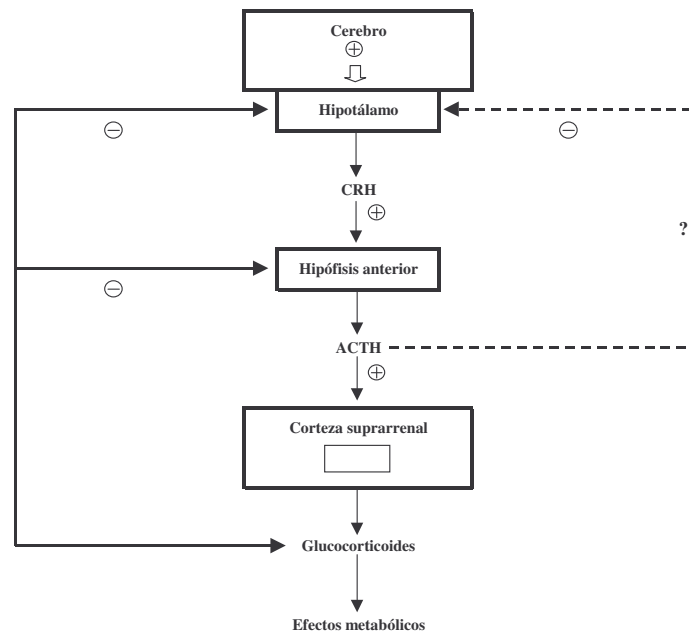


Figura 1.7: Inhibición de la secreción de CRH hipotalámica y de la ACTH hipofisaria por *feedback* del cortisol.

La secreción de ACTH por fuentes ectópicas en la mayoría de los casos no se frena, o se frena sólo débilmente, por el cortisol (o la dexametasona).

El receptor de la ACTH ha sido clonado⁴¹. Forma parte de la familia de los receptores de siete dominios transmembrana y, dentro de este grupo, de la subfamilia de los receptores de las melanocortinas (MCR) formado al menos por cinco miembros. El gen que codifica el receptor de la ACTH (MC2R) está localizado en el cromosoma 18p11.2. El cDNA codifica una proteína de 297 aminoácidos, que contiene dos puntos potenciales de N-glicosilación. Las características cinéticas y fisicoquímicas del receptor han sido estudiadas en varias especies, incluido el hombre. La afinidad del receptor por la ACTH es elevada ($K_D = 0,1 \text{ nM}$) y tiene un peso molecular de 40 KDa. El receptor de la ACTH, está regulado por la propia hormona y también por la angiotensina II⁴². Esta acción de la ACTH sobre su propio receptor, asociada al efecto

positivo de la hormona sobre la expresión de las enzimas de la esteroidogénesis, explica que un tratamiento previo con la hormona, potencie la respuesta a una estimulación ulterior.

No se tiene total conocimiento de los mecanismos moleculares por los que la ACTH ejerce control sobre las vías glucocorticoides⁴³. La unión de la ACTH a su receptor en la membrana celular suprarrenal, precede a la activación de la adenil ciclasa de la membrana. En este paso son necesarios iones de calcio. A su vez el AMP cíclico (cAMP) activa la fosfoproteinquinasa y otras enzimas por fosforilación. Las enzimas recién activadas estimulan varios procesos. El más importante de ellos es la hidrólisis de los ésteres de colesterol. Se han observado dos tipos de respuesta suprarrenal cortical a la ACTH, una rápida (aguda) y una a largo plazo (crónica), ambas parecen estar mediadas por cAMP.

La acción aguda de la ACTH, se caracteriza por un aumento en el flujo de colesterol a través de las vías de esteroidogénesis, lo que da lugar a una producción rápida de esteroides. La respuesta crónica se manifiesta a nivel de la síntesis proteica, por un aumento en el sistema de enzimas dependientes del citocromo P-450 (enzima de escisión de la cadena lateral del colesterol, 11β -hidroxilasa, 17α -hidroxilasa y 21α -hidroxilasa)⁴⁴. La zona glomerular responde a los efectos agudos de la ACTH con una liberación de aldosterona, que no es sostenida, a diferencia de la producida por estimulación crónica de ACTH.

La hipófisis contiene factores con actividad mitogénica suprarrenal, estimulando la proliferación de varios tipos de células, particularmente aquéllas derivadas del mesénquima primario y secundario, entre las que se encuentran las células de la corteza suprarrenal. Los factores de crecimiento pueden influir en los mecanismos intrasuprarrenales que regulan los cambios esteroidogénicos característicos de la adrenergia. La ACTH puede jugar un papel permisivo en los efectos que tienen los factores de crecimiento sobre la estructura suprarrenal.

1.1.7.1. Control de los andrógenos suprarrenales

La concentración sérica basal de cortisol es estable a lo largo de toda la vida. No ocurre lo mismo con las concentraciones séricas de andrógenos que varían, y no siempre de manera proporcionada entre unas y otras. De este modo, en el caso de la DHEA, se observa un descenso rápido de la concentración tras el nacimiento, seguido de un

aumento gradual durante el final de la infancia y la pubertad. DHEA, DHAS, androstendiona y 11β -hidroxiandrostendiona son secretadas de manera episódica y a la vez que el cortisol⁴⁵. La secreción de andrógenos está bajo el control de la ACTH, pero existe también un control adicional por otras hormonas, tanto hipofisarias como extrahipofisarias. Las concentraciones plasmáticas de DHEA y DHAS, durante el desarrollo sexual, pueden frenarse al administrar dexametasona y estimularse con ACTH.

Winter ha propuesto un modelo que explica los cambios que tienen lugar en la esteroidogénesis suprarrenal con la edad⁴⁶. Los cambios en las zonas y en el desarrollo de la secreción de andrógenos suprarrenales, están relacionados con los que ocurren en la secreción de cortisol y están inducidos por cambios en el microambiente esteroide que a su vez dependen del crecimiento suprarrenal, la migración celular y el flujo sanguíneo centripeto a través de la glándula.

Los cambios en la función suprarrenal que tienen lugar antes de la pubertad se atribuyen a la remodelación de la corteza suprarrenal, que es secundaria al crecimiento de la glándula hacia el tamaño adulto.

Las células de la corteza suprarrenal se originan de células precursoras, situadas en la parte inferior de la cápsula glandular y que migran hacia el interior de la médula. Al moverse hacia el interior, las células pasan de ser glomerulares a ser fasciculares. Una vez alcanzado un tamaño suprarrenal crítico, las células adyacentes a la médula se diferencian en células reticulares. Se discute el mecanismo mediante el que se desarrolla una población adicional de células de la zona reticular en la adrenarquia. Últimamente existen estudios que defienden que no es necesaria una estimulación suprarrenal androgénica independiente⁴⁷. Los cambios en la secreción suprarrenal de andrógenos durante el desarrollo reflejan cambios en la actividad enzimática relativa, que son inducidos por la necesidad de mantener una secreción de cortisol estable, con el fin de asegurar el crecimiento suprarrenal.

Durante la vida fetal, aunque existe una notable estimulación de ACTH, la actividad 3β -hidroxiesteroide androgenasa suprarrenal está muy reducida como consecuencia de la combinación de los efectos inhibidores de los esteroides de la suprarrenal fetal y de la placenta⁴⁸. Tras el nacimiento, al desaparecer los esteroides placentarios y disminuir la tasa de aclaramiento metabólico del cortisol, se observa un descenso de ACTH, que lleva a una disminución del tamaño suprarrenal y el V_{\max} para 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa. El aumento gradual en la producción de

andrógenos suprarrenales antes de la pubertad, refleja el aumento relativo en la actividad de 17α -hidroxilasa y $17,20$ -desmolasa y el descenso en la actividad 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa.

La disminución de la actividad 21 -hidroxilasa a lo largo de la vida, recuerda el cambio temporal que se observa en la funcionalidad de las células suprarrenales *in vitro*. Los andrógenos tienen efectos inhibitorios a este nivel. Se ha observado, que las concentraciones de androstendiona en las zonas internas de la corteza suprarrenal, aumentan con la edad al alcanzar la suprarrenal su máximo tamaño. La androstendiona puede estar dentro del intervalo de concentración que causa pérdida de actividad 21 -hidroxilasa en las células cultivadas⁴⁹.

1.1.7.2. Control de la secreción de aldosterona

Los niveles fisiológicos de ACTH pueden regular cambios bruscos en los niveles de aldosterona circulante⁵⁰, pero éste no es el principal mecanismo de control. La aldosterona se regula principalmente por el sistema renina-angiotensina que es responsable del control del equilibrio electrolítico y del volumen plasmático. Una hiponatremia muy intensa puede, en sí misma, estimular la secreción de aldosterona; la hipercaliemia estimula la síntesis de aldosterona en la zona glomerular.

La renina, una glucoproteína (peso molecular 42 KDa) es sintetizada en el aparato yuxtaglomerular del riñón y se almacena como una proenzima activa en las células de la mácula densa de los túbulos distales contorneados. La renina es una enzima proteolítica que hidroliza un decapeptido (angiotensina I) del sustrato de la renina (angiotensinógeno - una $\alpha 2$ -globulina sintetizada en el hígado). La angiotensina I tiene poca actividad biológica intrínseca, pero es hidrolizada de nuevo a angiotensina II, un octapeptido, por acción de la enzima convertora de la angiotensina (ECA). Esta enzima se encuentra en el pulmón a altas concentraciones, pero también está ampliamente distribuida en los vasos y otros tejidos, de manera que la producción local de angiotensina II puede ser de importancia en determinadas circunstancias. La angiotensina II tiene una vida media plasmática corta, de 1-2 minutos y se destruye rápidamente por la angiotensinasa.

La liberación de renina se estimula por la disminución en la presión de perfusión renal, por la hipocaliemia y por la disminución en la concentración de sodio en la mácula densa. La liberación de renina estimula de manera indirecta la síntesis de

angiotensina, que produce vasoconstricción en un intento de mantener la tensión arterial. La angiotensina II también estimula la producción de aldosterona que produce reabsorción de sodio y la consiguiente expansión del volumen plasmático.

Las formas de renina inactiva circulantes en plasma son activadas por ácido, por frío o por tratamiento proteolítico. En el plasma de adultos normales, la renina inactiva representa del 80 al 90 % del total de renina. En la sangre que se extrae de un niño en decúbito supino no se detecta renina inactiva, pero la renina activa es alta (8-30 ng/mL/hora).

La producción de aldosterona se regula a dos niveles en su vía de síntesis. El primer lugar de regulación es la conversión de colesterol a pregnenolona. A este nivel se estimula por la angiotensina II, la ACTH y el potasio y se conoce como primer paso. El segundo nivel o último paso en la conversión de corticosterona a aldosterona, se estimula por el potasio y por altas concentraciones de angiotensina II. La depleción de sodio, aumenta la síntesis de aldosterona en la zona glomerular mediante el aumento en la tasa de escisión de la cadena lateral del colesterol y en la conversión de corticosterona a aldosterona⁵¹. La primera fase se estimula por mecanismos dependientes del calcio; se desconoce el mecanismo de estimulación por potasio en la última fase.

1.1.7.3. El sistema renina-angiotensina en condiciones basales

La concentración plasmática y la eliminación urinaria de aldosterona son altas en niños a término durante el período neonatal. Los descensos observados en estos parámetros, que están relacionados con la edad, reflejan la actividad del sistema renina-angiotensina. Así pues, la actividad renina plasmática en niños está aumentada en comparación con los valores del adulto⁵². Las concentraciones de renina en plasma muestran el mismo descenso relacionado con la edad que la actividad de renina plasmática, de modo que el descenso de la actividad renina plasmática con la edad refleja un descenso en la concentración de renina.

Se observa también, un descenso significativo relacionado con la edad en los niveles basales de angiotensina I y II, pero no en los de enzima convertidora que son similares a los valores del adulto y no están relacionados con la edad.

1.1.7.4. El papel del sistema renina-angiotensina en la homeostasis del sodio

Los niños nacidos a término y alimentados al pecho, suelen tener un balance positivo de sodio. Por el contrario, la homeostasis de sodio en grandes prematuros que reciben aporte sódico similar durante las dos primeras semanas de vida, puede llevar a un balance negativo de sodio con hiponatremia. Los niños menos maduros necesitan más tiempo para conseguir el equilibrio de sodio. Al principio, la glándula suprarrenal no responde a la angiotensina, pero cuando la aldosterona está presente, los túbulos renales distales son refractarios a la hormona. Las altas concentraciones de péptido natriurético auricular en el recién nacido⁵³, pueden contribuir a la pobre respuesta de la aldosterona a angiotensina II observada en esta edad.

1.1.7.5. Otros mecanismos de control de la producción de aldosterona

Las prostaglandinas, estimulan la liberación de aldosterona por las células glomerulares de la glándula suprarrenal. Se desconoce el lugar de acción.

El SNC actúa en la suprarrenal regulando la liberación de renina. La serotonina *in vitro* estimula notablemente la síntesis de aldosterona. Se sabe que mecanismos dopaminérgicos inhiben la secreción de aldosterona, gracias a estudios *in vivo* que emplean metoclopramida, un antagonista competitivo de la dopamina en el SNC y periférico⁵⁴. La administración de metoclopramida en humanos aumenta las concentraciones plasmáticas y la excreción urinaria de aldosterona, sin alterar su tasa de aclaramiento metabólico. La secreción de aldosterona está bajo inhibición tónica máxima por la dopamina. La corteza suprarrenal contiene gran cantidad de dopamina que no se origina en las neuronas; también tiene receptores dopaminérgicos. La respuesta de aldosterona a la angiotensina II se inhibe selectivamente por mecanismos dopaminérgicos. La actividad dopaminérgica está directamente relacionada con el estado del equilibrio sódico.

Se ha purificado, hasta la homogeneización, un factor estimulante de la aldosterona (ASF). Se trata de una glucoproteína de peso molecular 26 KDa⁵⁵. El ASF estimula la secreción de aldosterona por un mecanismo independiente del cAMP. La secreción de aldosterona estimulada por ASF, no se bloquea por antagonistas competitivos específicos de ACTH o AII. El ASF se ha encontrado únicamente en la hipófisis anterior y se supone que la corteza suprarrenal es el órgano receptor. Las

concentraciones plasmáticas de ASF aumentan con el aporte dietético de sodio y no se frenan al administrar dexametasona. El ASF no responde a la postura erecta en sujetos normales, pero aumenta con la aldosterona en el hiperaldosteronismo idiopático.

1.1.8. TRANSPORTE DE ESTEROIDES SUPRARRENALES

La mayor parte del cortisol circulante está unida a una α_2 -globulina llamada transcortina o globulina transportadora de cortisol (CBG). Esta proteína de peso molecular 52 KDa, posee un único sitio de unión al cortisol en cada molécula. El cortisol también se fija a la albúmina, pero en menor grado (20%) que a la CBG (70%). También se fijan a la CBG, corticosterona, 11-desoxicortisol, 17α -hidroxiprogesterona, desoxicorticosterona, progesterona, cortisona y aldosterona, pero en menor grado que el cortisol. Los esteroides sintéticos, dexametasona y 9α -fluorohidrocortisol se fijan sólo débilmente a la CBG. La vida media del cortisol en la circulación es de 60-90 minutos. La CBG se sintetiza en el hígado y su producción aumenta por acción de los estrógenos. Las concentraciones de CBG disminuyen en pacientes con cirrosis, nefrosis y mieloma múltiple. La fracción plasmática libre de cortisol es mínima cuando las concentraciones totales de cortisol en plasma son normales (aproximadamente 400 nmol/L). Los sitios de unión de CBG se saturan cuando el cortisol plasmático total excede los 600 nmol/L. El cortisol libre en plasma y su excreción urinaria aumentan a concentraciones plasmáticas de cortisol superiores.

1.1.9. ACCIÓN DE LA HORMONA ESTEROIDE

El primer modelo de la acción de la hormona esteroide defendía que el receptor era una proteína citoplasmática, que al interaccionar con la hormona entraba en el núcleo, donde modificaba las funciones nucleares. Desde la década de los 80 ha cambiado nuestro conocimiento acerca de las primeras fases de la acción hormonal⁵⁶.

Se cree que los receptores de esteroides se sitúan en el citoplasma, ya que se han encontrado receptores libres en la fracción soluble citoplasmática, al preparar tejidos receptores por separación mecánica de los tejidos diana, mediante una solución tampón. Se acepta que los receptores de esteroides tienen dos estados, citoplasmático y nuclear,

que pueden separarse *in vitro* por ultracentrifugación. Los componentes se diferencian en formas 4S y 8S (fracción soluble del citoplasma) y 5S (nuclear).

La figura 1.8 ilustra cómo las hormonas esteroides provocan la respuesta de las células receptoras.

Los receptores esteroides libres se cree que son proteínas nucleares unidas a componentes del núcleo mediante interacciones de baja afinidad. Las hormonas esteroides son lipofílicas y pueden atravesar las membranas y el citoplasma celular para llegar al núcleo, donde interaccionan con los receptores nucleares. Como resultado de esta interacción tienen lugar cambios rápidos en la configuración de la proteína del receptor, que adquiere nuevas propiedades físicas. El esteroide unido al receptor, estimula genes específicos según el mensaje de la hormona y de las células receptoras. La síntesis, DNA dependiente, de ciertos mRNA origina la síntesis de proteínas que alteran la función celular.

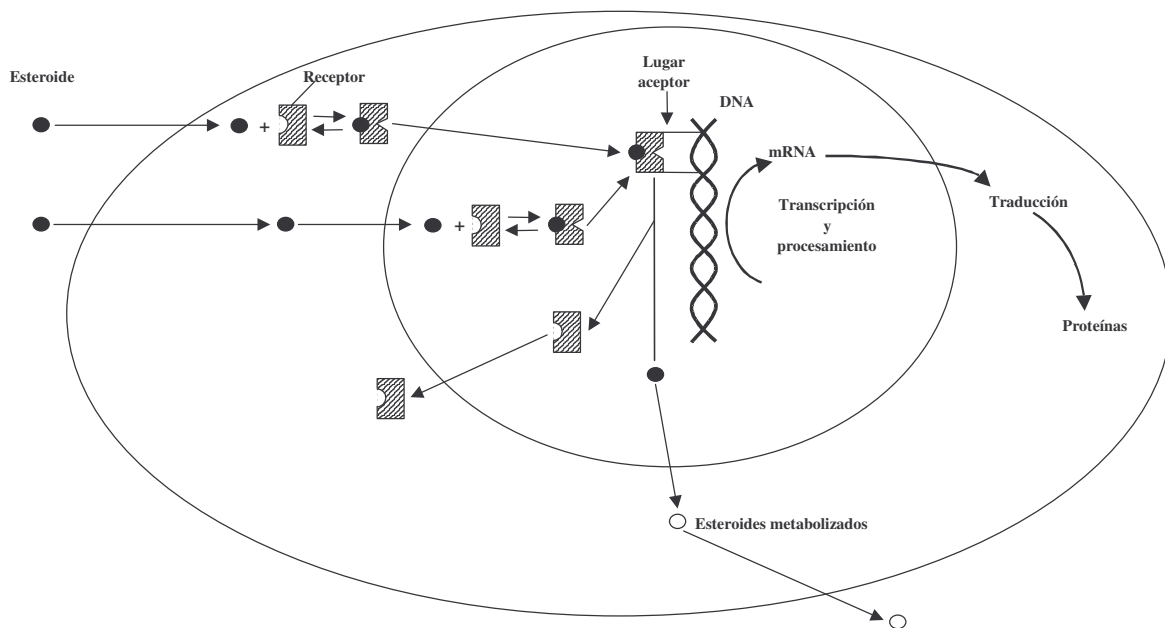


Figura 1.8: Mecanismo de acción de la hormona esteroide.

1.1.10. ESTEROIDES EN PLASMA

Las concentraciones plasmáticas de cortisol pueden determinarse mediante técnicas de fijación a proteínas, usando proteínas endógenas como la CBG o exógenas como anticuerpos. La unión a CBG es inespecífica, pero el cortisol, en condiciones normales,

está presente en el plasma humano a concentraciones muy superiores a las de los esteroides competidores, lo que permite realizar sin problemas el método de fijación proteica competitiva basado en la CBG. El inmunoensayo ha superado en gran manera a este método por la fácil disponibilidad de antisueros con alta especificidad y afinidad al cortisol. En muchos métodos, no es preciso extraer los esteroides del plasma, aunque es necesario algún sistema que desplace el cortisol de las proteínas vectoras, como es un pH bajo, o antagonistas esteroides sintéticos.

Muchos esteroides pueden dosificarse utilizando radioinmunoensayo. Los antisueros no suelen ser específicos. Así pues, lo ideal sería extraer los esteroides de los líquidos biológicos antes de la separación (por ejemplo cromatografía de capa fina, cromatografía en papel, cromatografía líquida de alta definición) para conseguir eliminar, antes de que se realice el inmunoensayo, las posibles interferencias por esteroides. Esta medida tiene la ventaja adicional, en estudios en niños, de que permite determinar varios esteroides con una única extracción de suero.

En algunos laboratorios, las concentraciones plasmáticas de cortisol aún se determinan mediante métodos colorimétricos y fluorimétricos. Los esteroides determinados por este procedimiento se denominan cromógenos Porter-Silber, en memoria de los creadores del método.

El cortisol y los esteroides con un grupo 11β -hidroxilo son fluorescentes cuando se incuban en ácido sulfúrico etanólico. La corticosterona y el 21-desoxicortisol también reaccionan con este método de Mattingly, pero las reacciones son más lentas. La especificidad aumenta, si se cronometra con precisión la reacción antes de medir la luz transmitida por estimulación del fluorímetro. Los esteroides sintéticos no interfieren en esta prueba. El plasma posee una fluorescencia inespecífica de fondo que produce una sobreestimación de las concentraciones plasmáticas de cortisol en 60-100 nmol/L. La espironolactona y otros fármacos interfieren en este método.

1.1.10.1. Valores normales

La concentración de cortisol en plasma es mínima alrededor de la medianoche y aumenta a un máximo entre las 06 y las 08 horas, para ir disminuyendo después lentamente a lo largo del día. El ritmo circadiano del cortisol se establece aproximadamente a los 6 meses de edad⁵⁷.

Las concentraciones plasmáticas de 17α -hidroxiprogesterona son inferiores a 40 nmol/L en niños normales durante las primeras 48 horas de vida. Después, los niveles normales en niños son inferiores a 10 nmol/L. En niños gravemente enfermos, particularmente en prematuros, pueden hallarse concentraciones elevadas. En recién nacidos normales, las concentraciones de 17α -hidroxiprogesterona en saliva son inferiores a 1,5 nmol/L.

El *pool* vascular de DHAS es grande. Este esteroide tiene una vida media de 10 a 20 horas; por ello existen relativamente pocas fluctuaciones en las concentraciones de DHAS, a diferencia del patrón episódico de DHEA. No existen diferencias, en la mayor parte de la infancia, entre las concentraciones de DHEA de uno y otro sexo. A los 8-10 años, las concentraciones de DHAS son claramente superiores a las del niño más pequeño. El aumento de DHAS precede a cualquier cambio en la secreción de gonadotrofinas. Los niños con adrenarquia prematura, tienen concentraciones aumentadas de DHEA en plasma o niveles de DHAS similares a los que tendrían niños más mayores en el mismo estadio de desarrollo sexual. Las concentraciones de DHEA son útiles para diagnosticar tumores virilizantes secretores de DHAS y también para el diagnóstico de la hiperplasia suprarrenal congénita por déficit de 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa.

El 11-desoxicortisol (compuesto de Reichstein-S), suele determinarse por inmunoensayo. Las concentraciones normales son de 5-20 nmol/L⁵⁸. La cromatografía líquida de alta definición (HPLC), puede ser útil para esta determinación en la hiperplasia suprarrenal congénita debida a deficiencia de 11β -hidroxilasa y en los pacientes que reciben metirapona.

La aldosterona muestra un cambio circadiano notable en sus concentraciones plasmáticas, que sigue al del cortisol. Los valores máximos se observan entre las 06 y las 08 horas. Las concentraciones plasmáticas están estrechamente relacionadas con la postura. Las concentraciones plasmáticas normales de aldosterona disminuyen con la edad durante la infancia. El aumento en la producción de aldosterona está en relación con la elevada actividad renina plasmática al nacer. Esta actividad disminuye a lo largo de los 3 primeros años de vida. Los niveles del adulto se adquieren a los 3-5 años de edad.

Las concentraciones plasmáticas altas de testosterona en varones de menos de 3 meses de vida se producen por los testículos, que están activados por LH. A partir de los

6 meses de edad y hasta llegar a la pubertad, las glándulas suprarrenales son la principal fuente de testosterona. En niños, la androstendiona se produce principalmente en la corteza suprarrenal.

1.1.11. CATABOLISMO Y EXCRECIÓN DE ESTEROIDES

Los esteroides son sustancias hidrofóbicas. Las reacciones catabólicas, además de inactivar las hormonas activas fisiológicamente, sirven también para convertir las moléculas esteroides en productos más hidrofílicos. Las propiedades de las enzimas que actúan en el metabolismo de los esteroides se resumen en la tabla I.II. En la tabla I.III se recogen las relaciones de los metabolitos con las hormonas. Las reacciones catabólicas en su mayoría son reductivas y ocurren sobre todo, aunque no exclusivamente, en el hígado. La solubilidad en agua de los metabolitos esteroides aumenta si se conjugan con ácido sulfúrico o glucurónico.

En la circulación, el cortisol y la cortisona pueden interconvertirse por acción de la oxidoreductasa 11β -hidroxiesteroide deshidrogenasa, que cataliza la conversión de los grupos 11β -hidroxilo y 11 -oxo. La 11β -hidroxiesteroide deshidrogenasa probablemente no es una enzima única y tiene propiedades oxidasa y reductasa que varían según el medio.

Aún no se conocen con exactitud las propiedades bioquímicas y enzimáticas de la 11β -hidroxiesteroide deshidrogenasa, pero existen bastantes datos que permiten diferenciar enzimas según su actividad oxidasa o reductasa en diferentes tejidos. En el adulto, la relación cortisol-cortisona plasmática es de 5, a diferencia de la vida fetal en que esta relación es de alrededor de 0.3. La capacidad para oxidar esteroides 11 -hidroxilados a compuestos 11 -oxo (11 -dehidro), y para reducirlos en la reacción inversa es una propiedad común a las enzimas de muchos tejidos. La mayor parte de los metabolitos esteroides se eliminan en orina como sulfatos o conjugados glucuronados hidrosolubles formados principalmente en el hígado. La sulfoquinasa precisa sulfato "activo", que es donado por la fosfoadenosinfosulfato (PAPS). La glucuronil transferasa utiliza ácido uridina difosfoglucurónico (UDPG).

Tabla I.II: Enzimas que intervienen en el catabolismo de esteroides.

Reducción de la estructura 4-ene-3-ona
<i>5 α-reductasa</i>
<i>5 β-reductasa</i>
<i>3-ceto-esteroide reductasa</i>
Reducción de la estructura 20-cetona
<i>20 α-reductasa</i>
<i>20 β-reductasa</i>
Formación oxidativa de 17-oxoesteroides
<i>17 β-hidroxiesteroide oxidasa</i>
<i>escisión de la cadena lateral</i>

La aldosterona se cataboliza de manera similar al cortisol con formación de 3 α -, 5 β -tetrahydroaldosterona. En orina, se observa un único conjugado de aldosterona; un conjugado altamente polar, del que puede liberarse la aldosterona por hidrólisis en un medio con pH 1. Su estructura se ha confirmado como el 18-glucurónido de aldosterona. El metabolito es producido predominantemente en el riñón. Se han descrito otros metabolitos menores; algunos de ellos, tienen relevancia clínica.

Tabla I.III: Relación entre metabolitos y hormonas

Circulación hormonal	Principales compuestos de esteroides en orina
Cortisol (F)-Cortisona (E)	Tetrahydrocortisol (THF) Tetrahydrocortisona (THE) Cortol (hexahydrocortisol) Cortolona (hexahydrocortisona) 11 β -hidroxiandrosterona 11 β -hidroxi-etiololona
Corticosterona (B)	5 α -tetrahydrocorticosterona (5 α -THB, alo-THB) THB 5 β -tetrahydro-11- Dehydrocorticosterona (THA)
17 α -hidroxiprogesterona	Pregnantriol (5 β -preganano-3 α ,17 α ,20 α -triol)
DOC	THDOC
S	THS
Testosterona	Androsterona (5 α -tetrahydroandrostendiona)
Androstendiona	Etiololona (5 β -tetrahydroandrostendiona)

1.1.12. ESTEROIDES SUPRARRENALES EN ORINA

La eliminación urinaria de esteroides en 24 horas es un dato importante de la función suprarrenal en humanos. El mayor problema en niños es la recogida correcta de la muestra. La naturaleza de los esteroides en orina representa el conjunto de varios procesos: secreción, metabolismo periférico, reducción y oxidación hepática antes de la eliminación renal. Cualquiera de estos procesos puede alterarse por enfermedad o fármacos. En las pruebas que determinan grupos químicos, el resultado final puede estar influido por diversos esteroides con actividad biológica muy variada.

1.1.12.1. Determinación de grupos

Los 17-hidroxicorticosteroides urinarios pueden determinarse mediante la reacción colorimétrica de Porter-Silber, que detecta metabolitos de cortisol y de cortisona. Esta prueba tiene los problemas de las determinaciones plasmáticas y se utiliza poco. Los esteroides 17-oxogénicos se miden colorimetricamente por la reacción de Zimmerman (el cromógeno se forma por la reacción del grupo carbonilo C17 con dinitrobenzoceno). Este método ya no se usa y ha sido reemplazado por pruebas específicas para hormonas determinadas.

La producción de andrógenos antes de la pubertad es principalmente de origen suprarrenal. Los andrógenos urinarios pueden determinarse usando la reacción de Zimmerman (17-oxoesteroides). Esta prueba es de mayor valor en la práctica pediátrica que en la endocrinología de adultos para evidenciar niveles altos de andrógenos, que orientan al diagnóstico de hiperplasia suprarrenal congénita o de tumores suprarrenales virilizantes.

1.1.12.2. Metabolitos específicos en orina

La determinación de la eliminación de cortisol libre en orina es una prueba excelente para el diagnóstico del síndrome de Cushing, pero no es útil en la insuficiencia suprarrenal. Varios fármacos interfieren con esta determinación⁵⁹. El cortisol libre en orina, se determina por radioinmunoensayo o por prueba de fijación competitiva a proteína tras la extracción. Algunos anticuerpos presentan una mínima reacción cruzada con los conjugados esteroides típicos en orina, por lo que pueden dar valores aceptables para el radioinmunoensayo directo.

La tasa de secreción de cortisol puede determinarse mediante varios procedimientos que, en realidad, son técnicas experimentales. Estas técnicas raramente se practican ya que, en general, precisan la inyección de cortisol radioactivo. En un futuro próximo podrá disponerse de hormonas marcadas con isótopos estables, lo que evitará la exposición de los niños a la radioactividad, pero serán necesarios medios de laboratorio aun más especializados (un espectrómetro de masas).

En adultos y niños mayores, el pregnanetriol es el principal metabolito de la 17 α -hidroxiprogesterona. La tasa de eliminación de este metabolito puede determinarse colorimetricamente o usando cromatografía de gases, sin embargo, ello ya es de interés

histórico puesto que actualmente, la hiperplasia suprarrenal congénita por déficit de 21-hidroxilasa se detecta más eficazmente mediante la dosificación de la hormona en pequeñas muestras de plasma o sangre. De hecho, cuando se precisa determinar con exactitud el bloqueo metabólico en el recién nacido, el pregnanetriol representa únicamente una pequeña parte de los metabolitos urinarios de la 17 α -hidroxiprogesterona. La distribución de metabolitos urinarios, se visualiza eficazmente sólo con el análisis de los perfiles cromatográficos gaseosos en columnas capilarizadas.

La aldosterona ácido-lábil (18-glucurónido) es un índice adecuado de la producción de aldosterona debido a que el método es específico. La adición de ácido con pH 1 escinde este conjugado sin afectar a otros glucuronoconjugados de C3 y C21. Tras la extracción de esteroides libres de orina, hidrólisis ácida y reextracción con diclorometano, el extracto contiene la aldosterona que se ha liberado por la hidrólisis. Esto suele determinarse actualmente mediante radioinmunoensayo. La eliminación urinaria de este metabolito es útil por su correlación con la excreción urinaria de sodio. Se ha determinado la eliminación de aldosterona libre y 18-hidroxycorticosterona mediante la HPLC.

1.1.12.3. Perfiles de esteroides por cromatografía de gases de los esteroides urinarios

En el caso de los esteroides, un perfil metabólico se refiere a la capacidad para examinar varios metabolitos esteroides en un único análisis. Los metabolitos de esteroides en orina, pueden determinarse tras la separación de los esteroides en columnas capilares por cromatografía de gases, con un detector de ionización⁶⁰. Es un procedimiento complementario para determinar niveles plasmáticos de hormonas. El inconveniente de este análisis del perfil de esteroides es que puede ser necesaria la medición de varios metabolitos urinarios de una misma hormona, ya que las principales hormonas no tienen un único metabolito. Tampoco se determinan ciertas variaciones que tienen lugar en la síntesis de esteroides (como el ritmo circadiano). Sin embargo, el análisis de esteroides en orina de 24 horas es un índice de la producción hormonal diaria. Hemos establecido los límites normales de eliminación de metabolitos esteroides durante la infancia. Respecto a la eliminación total de metabolitos del cortisol existe una relación estrecha entre la excreción absoluta de esteroides (en $\mu\text{g}/24$ horas) y la superficie corporal. La excreción de andrógenos es baja en los primeros 7-8 años de vida, luego aumenta de 10 a 12 veces en los siguientes 8 años para adquirir los valores de eliminación del adulto.

El aumento de tetrahidro cortisona, al contrario, es progresivo. También puede obtenerse información válida de la proporción de metabolitos.

1.1.13. ESTADOS DE DEFICIENCIA DE ESTEROIDES SUPRARRENALES

Las alteraciones de la glándula suprarrenal pueden deberse a hipo o hiperfunción, bien sea de la corteza o de la médula suprarrenal. Función, en un sentido amplio, define la normalidad de la secreción y/o metabolismo de las hormonas. Como se resume en la figura 1.9, las secreciones hormonales de la corteza suprarrenal dependen de una regulación central de tipo cibernético (control por retroalimentación). La secreción de mineralcorticoides, aunque es corticotropa (ACTH)-dependiente, se controla por el sistema renina-angiotensina.

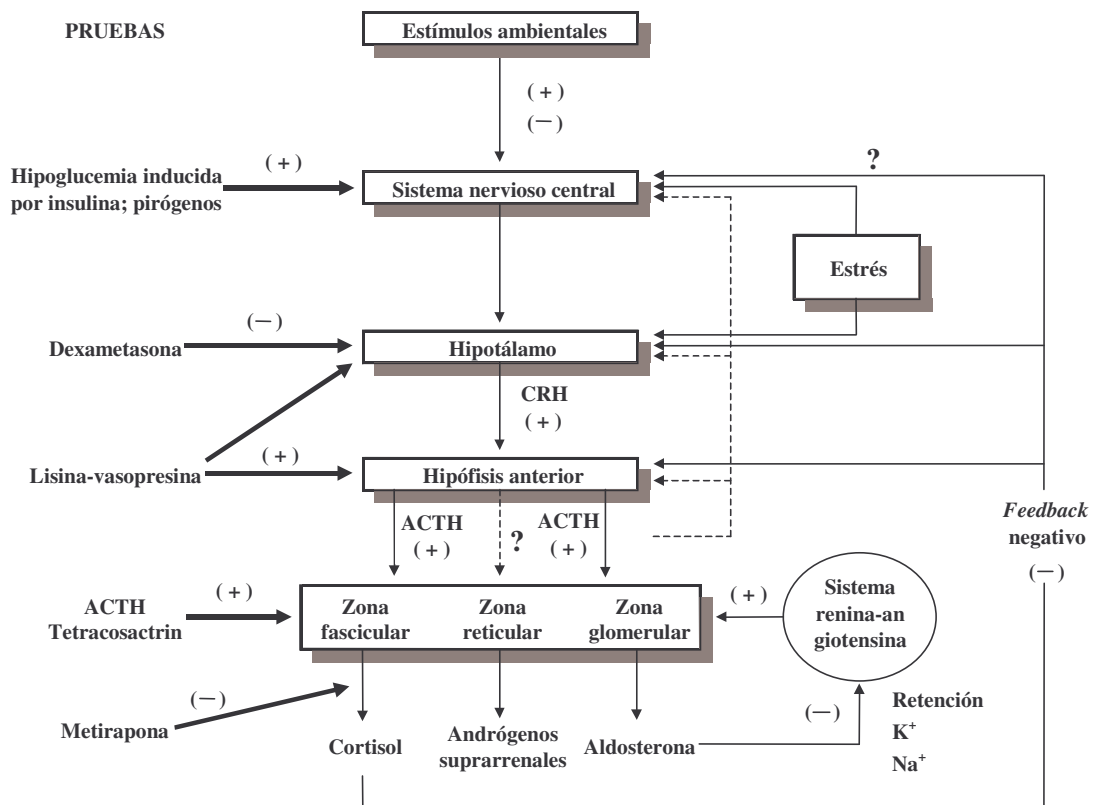


Figura 1.9: Regulación de la función suprarrenal. Cada nivel del eje hipotálamo-hipofisario-suprarrenal debe explorarse con pruebas dinámicas funcionales específicas.

Las alteraciones de la glándula suprarrenal pueden obedecer a una secreción suprarrenal anormal (alteraciones primarias) o a una alteración en el control hipotálamo-hipofisario (alteraciones secundarias). Tienen lugar tanto en hipo como en hiperfunciones de la glándula suprarrenal.

El aumento o la disminución de la función de la corteza suprarrenal puede ser completo o disociado, por ejemplo, dando lugar a una producción inadecuada de glucocorticoides, mineralcorticoides, andrógenos o estrógenos. En algunos casos, al alterarse el equilibrio hormonal, puede originarse una alteración de los controles normales de retroalimentación y pueden darse síndromes en los que se combinan la hipo y la hiperfunción suprarrenal selectivas: ejemplos típicos son las múltiples formas de hiperplasia suprarrenal congénita y de tumores suprarrenales. Así pues, la clasificación de los trastornos de la glándula suprarrenal es, a veces, arbitraria y se basa en las alteraciones clínicas o bioquímicas que predominan.

Para comprender las condiciones fisiopatológicas debemos basarnos en nuestro conocimiento de la fisiología y desarrollo del eje hipotálamo-hipofisario-suprarrenal. Sin embargo, en algunos trastornos de la glándula suprarrenal, no existen, aun, unas bases fisiopatológicas claras y completas.

El diagnóstico de cualquier trastorno de las glándulas suprarrenales puede orientarse por los hallazgos clínicos, pero sólo se establece plenamente mediante las mediciones hormonales, pruebas dinámicas y estudios morfológicos.

**1.2. HIPERPLASIA SUPRARRENAL
CONGÉNITA POR DÉFICIT EN
21-HIDROXILASA (P450C21)**

El término de hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) se refiere a un conjunto de trastornos hereditarios de la esteroidogénesis, causados, por la deficiencia de una de las cinco enzimas necesarias para la conversión del colesterol en cortisol. Se ha descrito un déficit hereditario, cuya frecuencia relativa es muy variable, que se refiere a cada una de estas enzimas. Todas ellas son enfermedades hereditarias autosómicas recesivas. Podemos clasificar la HSC en dos grandes grupos: un primer grupo en el que el déficit enzimático sólo afecta a la biosíntesis suprarrenal (déficit en 21-hidroxilasa, en 11 β -hidroxilasa y en aldosintetasa) y un segundo grupo de déficit que afecta a la vez a la biosíntesis de las hormonas sexuales, de cortisol y de la aldosterona (defecto de conversión del colesterol en pregnenolona, déficit en 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 β -HSD), déficit en 17 α -hidroxilasa). El punto común a todas estas afectaciones es la resultante de la suspensión del retrocontrol negativo ejercido por el cortisol sobre la secreción de ACTH (Fig.1.10). La ruptura del bucle de retrocontrol produce una hipersecreción de ACTH, causa directa de la hipertrofia de las glándulas suprarrenales, de ahí el nombre de la enfermedad, que había sido evidenciada en las autopsias desde el siglo XIX. Ello tendrá consecuencias por debajo del déficit ligadas a la ausencia de la hormona activa, y en primer lugar signos de insuficiencia suprarrenal. En el segundo grupo, estos signos se asocian, en el niño, a un déficit de producción de testosterona que por sí mismo puede ser la causa de un pseudohermafroditismo masculino (PHM). Una segunda serie de consecuencias aparecerá por encima del

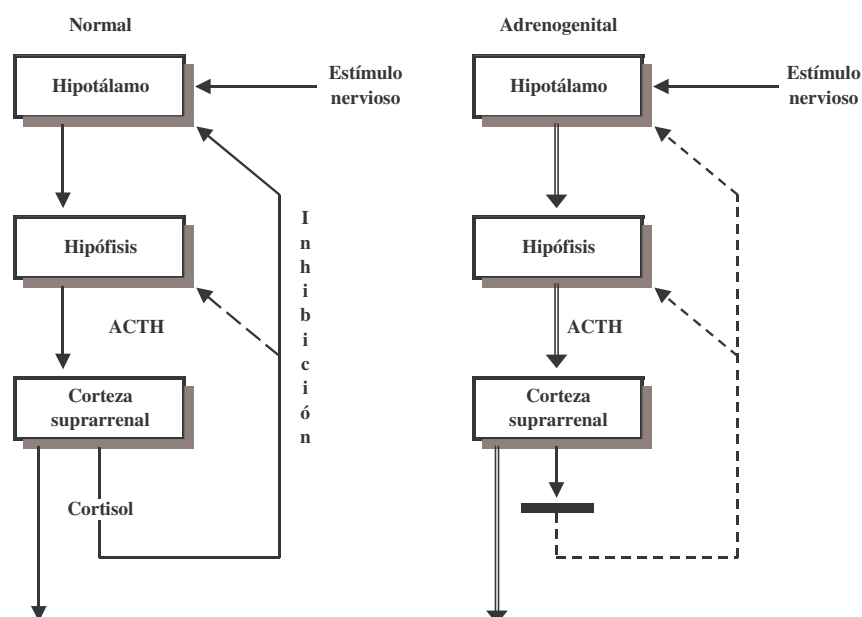


Figura 1.10: Regulación de la secreción de cortisol en personas normales y en pacientes con Hiperplasia Suprarrenal Congénita.

déficit, es la acumulación de precursores y/o la activación de la vía de biosíntesis de los andrógenos, que, en el primer grupo será responsable, en la niña, de una virilización anormal y/o de un pseudohermafroditismo femenino (PHF), que jamás se acompañan de anomalías de la diferenciación sexual en el niño.

1.2.1. FRECUENCIA

El déficit en 21-hidroxilasa es la forma más frecuente de HSC (>90 por 100) y por ello, a menudo, se considera como sinónimo de HSC, es a la que nos referiremos en este trabajo. También ha sido el más estudiado^{61,62} y, además, es la más frecuente de las enfermedades metabólicas hereditarias, aun cuando su incidencia es muy variable de una etnia a otra, siendo considerable en las poblaciones con una elevada tasa de consanguinidad como los esquimales Yup'ik o en la isla de la Reunión. En la literatura encontramos valores bastante diferentes, incluyendo el hecho de que la incidencia aparece dos veces más elevada en cada grupo étnico desde la puesta en marcha de la detección neonatal (Tabla I.IV).

Tabla I.IV: INCIDENCIA DE LOS DÉFICIT DE 21-HIDROXILASA (FORMAS CLÁSICAS), ESTIMADA POR DETECCIÓN PRENATAL O POR INVESTIGACIÓN DE LOS CASOS DIAGNOSTICADOS.

PAÍS	POBLACIÓN	DETECCIÓN (1978-1986) (CASOS POR NACIMIENTO)	ENCUESTA (CASOS DIAGNOSTICADOS)	AÑO
Alaska (USA)	Esquimales Yup'ik	1:282**	1:490	1969
	Nativos de Alaska		1:1.481	1969
La Reunión (Francia)	Heterogénea	1:3.147		
Roma (Italia)	Caucasiana	1:5.600		
Emilia-Romagna (Italia)	Caucasiana	1:10.248 a 14.600		
Zurich (Suiza)	Caucasiana		1:5.041	1958
Birmingham (UK)	Caucasiana		1:7.255	1966
Tirol (Austria)	Caucasiana		1:8.991	1979
Munich (Alemania)	Caucasiana		1:9.831	1977
Illinois/Wisconsin (USA)	Heterogénea*	1:11.928	1:15.000	1966
Suiza	Caucasiana		1:15.472	1980
Suiza	Caucasiana		1:18.445	1958
Lille y Lyon (Francia)	Caucasiana	1:11.090	1:23.000	1985
Suecia	Caucasiana	1:12.758		
Portugal	Caucasiana	1:14.285		
Toronto (Canadá)	Heterogénea*		1:26.292	1972
Escocia	Caucasiana	1:17.137	1:20.907	1986
Washington (USA)	Heterogénea	1:17.000 a 26.000	1:67.000	1956
Maryland (USA)	Heterogénea (1962/1965)	1:18.251	1:40.000	
Nueva-Zelanda	Heterogénea	1:18.773		
Japón	Asiática	1:20.892	1:43.764	1981
Media mundial (excepto Alaska)		1:14.500	1:23.147	
Media de los mediterráneos (Europa)		1:9.000		

* De mayoría caucasiana.

** Solamente formas severas con pérdidas de sal.

1.2.2. FISIOPATOLOGÍA

El citocromo P450c21 asegura la tercera etapa de la biosíntesis del cortisol en las zonas fascicular y reticular y también de la aldosterona en la zona glomerular. Esta actividad enzimática no se expresa en las gónadas. La actividad 21-hidroxilasa se ha evidenciado en numerosos tejidos periféricos, en particular en el feto y en la mujer embarazada, pero no está mediada por el P450c21 hallado en la suprarrenal. Se ignora la naturaleza de esta enzima cuya actividad es escasa y habitualmente sin incidencia significativa en la producción de cortisol, ni en la fisiopatología de la HSC. Sin embargo, persiste en el déficit de 21-hidroxilasa y podría explicar que algunos pacientes afectados por la forma severa de HSC hayan podido sobrevivir tras haber suspendido su tratamiento⁶³.

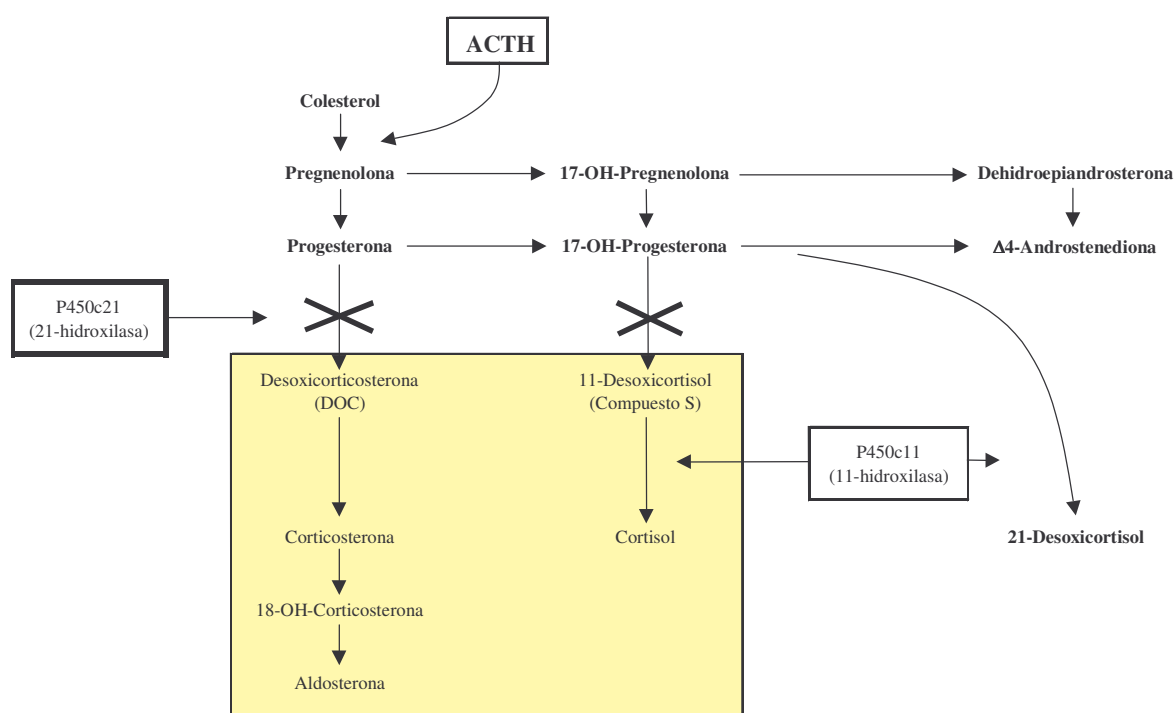


Figura 1.11: Déficit en 21-hidroxilasa. Esquema que muestra la localización del P450c21 (enmarcado en negro) en la cadena de biosíntesis del cortisol. Enmarcado en fondo amarillo, los esteroides producidos en cantidad insuficiente. En negrita, los esteroides precursores y los andrógenos suprarrenales producidos en exceso por el aumento de la ACTH. La vía de biosíntesis del 21-desoxicortisol está también ilustrada; vía anexa normalmente escasa que se hace más activa por el aumento marcado del sustrato 17-hidroxiprogesterona y una actividad 11 β -hidroxilasa normal.

El déficit de 21-hidroxilasa presenta tres características: insuficiencia suprarrenal, pérdida de sal e hiperandrogenia, que deriva directamente o indirectamente de la incapacidad de transformar la 17-hidroxiprogesterona (17-OHP) en 11-

desoxicortisol (compuesto S), y la progesterona (P) en 11-desoxicorticosterona (DOC) (Fig. 1.11). El defecto de secreción de cortisol induce una aceleración de la secreción de ACTH que produce a su vez una hipersecreción de los precursores inmediatos del cortisol, de los cuales una gran parte se desviará hacia la biosíntesis de andrógenos y luego en estrógenos. La insuficiencia de secreción de la aldosterona es variable. La pérdida de sal que produce tiene dos componentes, el propio déficit en 21-OH y su agravamiento por el efecto antialdosterona de P y de 17-OHP (así como de 16-hidroprogesterona en periodo neonatal) producidos en cantidad excesiva. El grado de pérdida de sal es el resultado neto del efecto mineralcorticoide de los agonistas (secreción residual de DOC, aldosterona) y de los antagonistas (importancia de las tasas de P y 17-OHP producidas). Esta situación produce una elevación de la actividad de la renina plasmática (ARP) y de la angiotensina circulante, las cuales, por el hecho del déficit enzimático, estimulan insuficientemente la secreción de aldosterona; de ahí la persistencia de una disminución de la relación aldosterona/ARP.

1.2.3. FORMAS CLÍNICAS

El déficit en 21-hidroxilasa se caracteriza por un espectro muy amplio de manifestaciones clínicas, cuya variabilidad influye a la vez sobre la gravedad de los síntomas y sobre su orden cronológico de aparición.

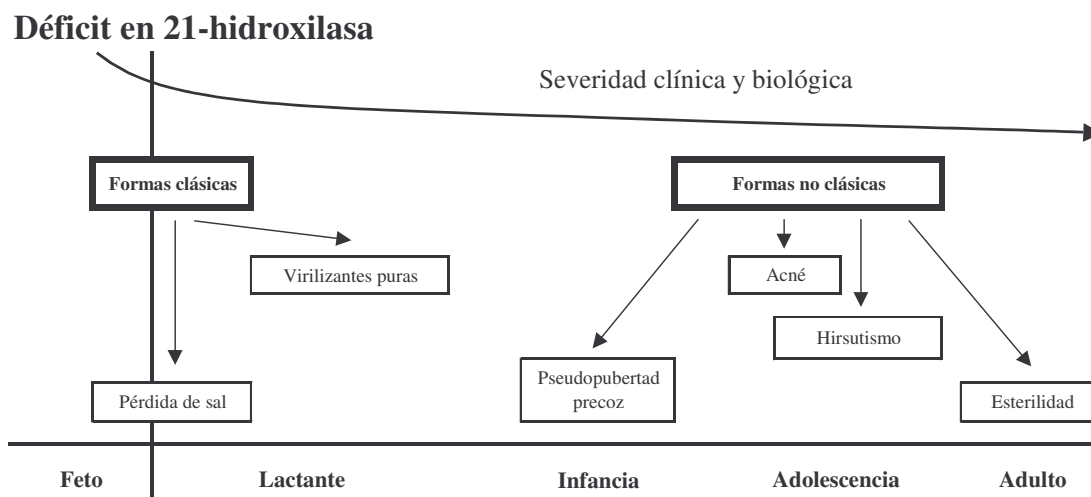


Figura 1.12: Espectro de las formas clínicas del déficit en 21-hidroxilasa. Esta puede variar en el tiempo y en el grado de gravedad: masculinización prenatal y fusión de los cojinetes genitales, virilización puberal o postpuberal. Algunos pacientes pueden ser asintomáticos y evolucionar o no hacia una forma sintomática denominada tardía.

Ahora sabemos que esta heterogeneidad clínica está directamente ligada con el grado de afección de los alelos P450c21. Se ha hablado durante mucho tiempo de un espectro continuo de formas clínicas (Fig.1.12). Actualmente las clasificamos en dos grandes categorías según si la enfermedad se inicie en el útero (formas clásicas) o no (formas no clásicas). Esta clasificación a veces es difícil de aplicar.

1.2.3.1. Formas clásicas

Por definición, son las formas severas de la enfermedad que se expresan ya en útero. Las cantidades muy elevadas de Δ^4 -androstenediona (Δ^4) que producen las suprarrenales afectadas, son transformadas en testosterona (T) por conversión periférica, por la presencia de un complejo 17-hidroxiesteroide deshidrogenasa en numerosos tejidos pero no en la suprarrenal, y luego en dihidrotestosterona (DHT) por la 5α -reductasa presente en el tubérculo genital. En el periodo crítico de diferenciación de los órganos genitales externos (OGE) el cojinete genital es muy sensible a la acción de este exceso de T y de DHT, y por ello los fetos femeninos se virilizan. Por el contrario, en el feto masculino que tiene una secreción testicular normal, un aporte suplementario de T/DHT carece de efecto sobre su diferenciación sexual. En la niña, la ambigüedad de los OGE presenta aspectos de gravedad variable, que van de una simple hipertrofia del clítoris, con o sin fusión posterior de los cojinetes genitales, a un fenotipo masculino con criptorquidia.

Estos aspectos han sido codificados en cinco estadios por Prader *et al.*⁶⁴, con

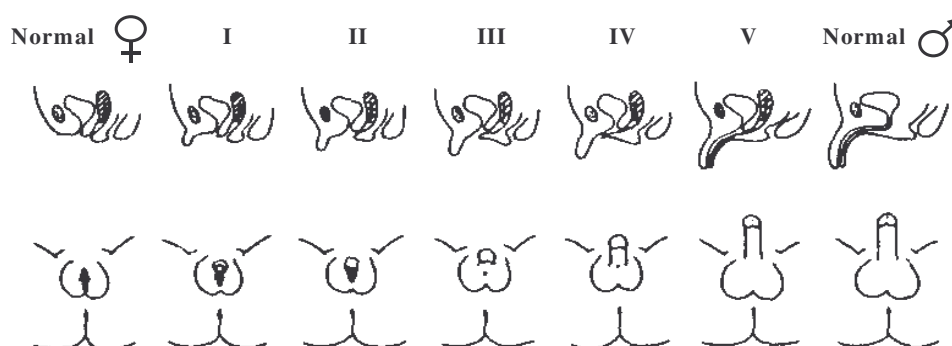


Figura 1.13: Esquema de los grados de virilización según Prader. Describe cinco estadios entre los fenotipos femenino y masculino normales.

objeto de definir las alteraciones visibles (Fig. 1.13). El aspecto más frecuentemente hallado es el del estadio III o IV. Sin embargo, estas niñas tienen ovarios normales, un útero y trompas de Falopio. Al nacer, se les puede tomar por niños y declararles como tal inadecuadamente.

El déficit en mineralcorticoides es causa de hiponatremia severa (Na^+ a menudo ≤ 120 mEq/L), hipercaliemia (K^+ a menudo ≥ 10 mEq/L) y acidosis ($\text{pH} \leq 7,1$), asociados con hipotensión, shock, colapso cardiovascular y fallecimiento rápido en ausencia de tratamiento. La placenta y las funciones renal y suprarrenal maternas permiten mantener al feto afecto de HSC una homeostasis electrolítica. Por ello, el síndrome de pérdida de sal no se desarrolla hasta después del nacimiento y, en general, solamente durante la segunda semana de vida. La insuficiencia mineralocorticoide es la causa de depleción sódica por pérdida urinaria de sodio, pero la asociación con vómitos puede impedir la aparición de hipercaliemia.

El déficit en glucocorticoides afecta al metabolismo glucídico y agrava el colapso cardiovascular. Estos niños pueden presentar una hipoglicemia severa, que puede tener temibles secuelas neurológicas en ausencia de un tratamiento específico.

Se distinguen dos subgrupos de formas clásicas: las formas con pérdida de sal y las formas sin pérdida de sal.

Formas clásicas con pérdida de sal: en la niña, la presentación clínica es, típicamente, la de un recién nacido con una ambigüedad sexual que puede llamar la atención desde el nacimiento y que desarrolla muy rápidamente un síndrome de pérdida de sal. En el niño, el diagnóstico es a menudo más tardío, a las 2-3 semanas de vida, ante un síndrome de pérdida de sal e hiperpigmentación de los OGE. En ambos sexos, el síndrome de pérdida de sal puede manifestarse de forma insidiosa (trastornos digestivos -diarrea, vómitos- ausencia de ganancia de peso, anorexia/astenia...) o súbita; es entonces cuando se puede desencadenar la crisis de descompensación suprarrenal, con shock y colapso cardiovascular, por una afección banal intercurrente. El diagnóstico entonces es fácil, ante el aumento extremo de las tasas plasmáticas de 17-OHP; tasas $\geq 100-200$ nmol/L o 3.000-6.500 ng/dL son prácticamente diagnósticas.

Formas clásicas sin pérdida de sal (virilizantes puras): en la niña, la ambigüedad sexual presente debe hacernos evocar el diagnóstico desde el nacimiento. El diagnóstico es mucho más difícil en el recién nacido masculino y, a menudo, se realiza tardíamente ante la aparición de signos de virilización, de pseudopubertad precoz con aceleración del crecimiento y de la maduración ósea. La explicación de esas formas

ha sido durante mucho tiempo sujeto de controversia. Se ha sugerido que existían dos isoenzimas, la primera expresada en la zona fascicular/reticular responsable de la biosíntesis de cortisol; la otra, expresada únicamente en la zona glomerular e implicada en la biosíntesis de la aldosterona, sería normal en las formas virilizantes puras. Esta hipótesis no puede seguir manteniéndose, pues existe un único P450c21 que se expresa en toda la suprarrenal.

De hecho, la frontera entre forma con o sin pérdida de sal se define por la aparición o no de manifestaciones clínicas con síntomas de pérdida de sal en periodo neonatal. Biológicamente, un cierto grado de pérdida de sal está presente en todas las formas clásicas por el efecto “pierde sal” de la 17α -hidroxiprogesterona elevada, porque todos los sujetos afectados tienen una tasa elevada de ARP. Es razonable admitir que en las formas virilizantes puras, la pérdida de sal está presente, pero compensada.

1.2.3.2. Formas no clásicas (NC) del déficit en 21-hidroxilasa

Los pacientes que presentan una forma NC, también denominada tardía, adquirida o parcial, del déficit en 21-hidroxilasa son aparentemente normales al nacer, pero presentan signos de hiperandrogenia más tarde en su vida (Fig. 1.12). La hiperandrogenia se define como una producción elevada de andrógenos para la edad y el sexo, independientemente de que éstos sean directamente secretados por la gónada o deriven de la conversión periférica de los precursores secretados en cantidad anormalmente elevada (bloqueos enzimáticos). En estas formas NC hay un aumento de la producción de andrógenos suprarrenales, el cual, eventualmente, está asociado en la niña a una alteración del mecanismo de control de los andrógenos ováricos. Por ello, las formas NC se expresan más a menudo en la niña en periodo peripuberal. También pueden presentarse en una edad más precoz bajo la forma de una pseudopubertad precoz disociada en los dos sexos.

Los signos clínicos no son específicos de una etiología dada, pudiendo manifestarse la hiperandrogenia de forma variable, sin relación evidente con las tasas circulantes de testosterona, el andrógeno más activo.

Esquemáticamente podemos ver en el niño de ambos sexos una aceleración inexplicada de la velocidad de crecimiento y de la maduración ósea, una pubarquia precoz (aparición de pilosidad púbica y/o axilar antes de los 8 años) o un acné más o menos severo, aislado o no. Un déficit NC en 21-hidroxilasa puede mimetizar una

pubarquia precoz idiopática no sólo clínica sino también biológicamente, pues en las dos situaciones observamos tasas plasmáticas de dehidroepiandrosterona sulfato (DHAS) elevadas para la edad. El diagnóstico no se hará, si no pensamos en la determinación de la 17-OHP.

En periodo postpuberal, un cuadro de hiperandrogenia sólo concierne en la práctica a niñas jóvenes que presentan en particular un acné rebelde, hirsutismo⁶⁵, trastornos menstruales (oligomenorrea o amenorrea) o esterilidad. Cada uno de estos síntomas pueden ser aislados, predominantes o estar asociados con uno o más de los demás síntomas. En un cierto número de casos se sobreañade un exceso de peso, e incluso obesidad, intolerancia a los hidratos de carbono o hiperinsulinismo.

También se han descrito formas NC que pueden manifestarse como una causa de retraso puberal en el niño, por el hecho del retrocontrol ejercido por los andrógenos suprarrenales sobre el eje gonadotrópo. En estas situaciones, como en la pseudopubertad precoz, era muy difícil, e incluso imposible, decidirse entre una forma virilizante pura y una forma NC de la enfermedad, antes de la era de la biología molecular.

Finalmente, existen formas crípticas del déficit enzimático en 21-hidroxilasa en las que el sujeto está asintomático⁶⁶, a pesar de la existencia de un cierto grado de hiperandrogenia biológica y una afección del gen de la 21-hidroxilasa.

1.2.4. GENÉTICA MOLECULAR

1.2.4.1. Relación genética

Desde hace tiempo está establecido que la HSC por déficit en 21-hidroxilasa es una enfermedad hereditaria autosómica recesiva. Por definición, ambos padres son clínicamente normales y obligatoriamente portadores, excepto en los casos poco frecuentes de mutaciones *de novo*. Hombres y mujeres la presentan en igual proporción. En 1977, Dupont *et al.*⁶⁷ ponen en evidencia una estrecha relación genética entre el gen de la 21-hidroxilasa y el locus B del sistema mayor de histocompatibilidad (HLA), que confirman rápidamente varios autores^{68,69}. Este complejo HLA se localiza en la banda 21.3 del brazo corto del cromosoma 6 (Fig. 1.14). Los alelos HLA codificados por cada sexto cromosoma se expresan codominantemente; un individuo tiene dos haplotipos

HLA, uno heredado de cada uno de sus padres, dando lugar a su genotipo. Una relación genética aún más estrecha con los genes del componente 4 del complemento se establece en 1982⁷⁰. El tipaje HLA, se ha utilizado durante mucho tiempo para la identificación de los heterocigotos y/o el diagnóstico prenatal.

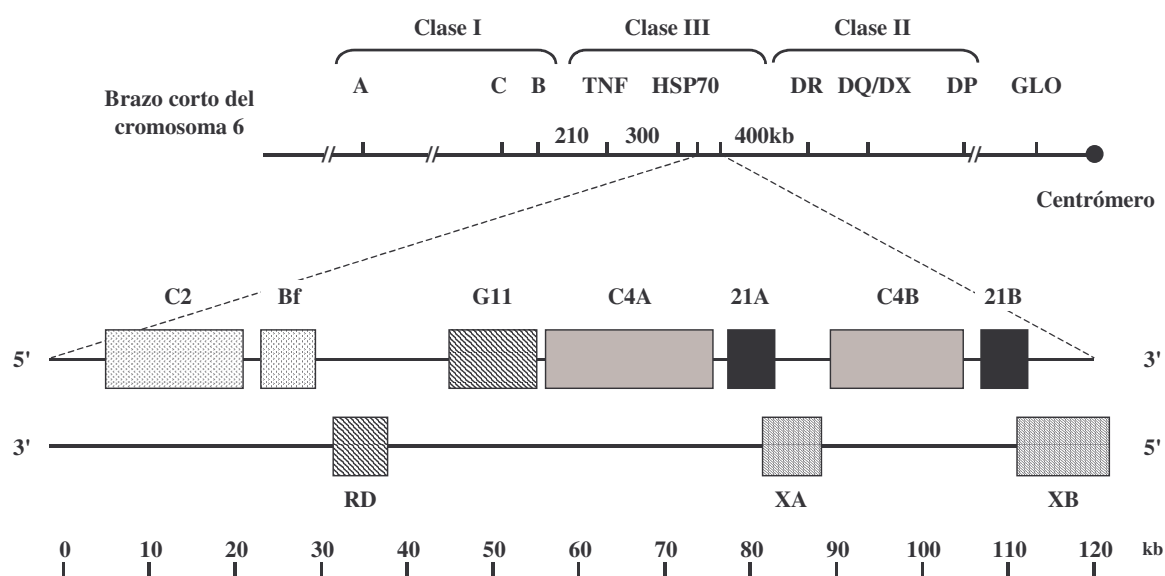


Figura 1.14: Mapa genético del brazo corto del cromosoma 6. En la línea superior, organización de las clases I, III y II del sistema mayor de histocompatibilidad (HLA). En la segunda línea, los locus A, C, B, DR, DQ/DX y DP del HLA, así como los locus de los genes glioxilasa (GLO), factor de necrosis tumoral α y β (TNF) y proteína de shock 70 (HSP70). Debajo, una ampliación de aproximadamente 120 kb de la clase III del grupo HLA. El componente 2 del complemento (C2); el factor properdina Bf (Bf); gen de expresión ubicuitaria (G11); dos genes no alélicos del componente 4 del complemento (C4A y C4B), situados en tándem de los genes de la 21-hidroxilasa: un pseudogen (CYP21A), y el gen funcional (CYP21B) que codifica el citocromo P450c21. En el brazo opuesto del DNA hay dos genes XA y XB cuya extremidad 3' se superpone con la de los genes CYP21, que codifican proteínas extracelulares, tenascin-X, y un gen RD de papel desconocido.

Existe una asociación estadística (desequilibrio de relación) entre ciertos haplotipos HLA y el déficit en 21-hidroxilasa. El HLA-Bw47, DR7 fue el primer segmento de haplotipo en el que se demostró desequilibrio en el enlace genético con formas clásicas del déficit en 21-hidroxilasa; esta asociación era aún más notable en anglosajones. Más recientemente, se observó la asociación entre formas con pérdida de sal y el grupo HLA-B60 y HLA-B40, o HLA-Bw47. La B35 estaba aumentada en todos los pacientes con formas clásicas del déficit, y B8 y B14 se encontraban disminuidas en

los mismos pacientes. Las asociaciones del déficit en 21-hidroxilasa y HLA son muy variables, y dependen del grupo étnico⁷¹.

Posteriormente, se notificó la asociación de formas virilizantes puras con el muy raro tipo HLA-Bw51, mientras que del 30 al 50 por 100 de las formas NC o crípticas se asocian con el HLA-B14 y una duplicación del gen C4B⁷². Está descrita la existencia de enlace genético desequilibrado entre HLA-B14 y la forma no clásica en judíos Ashkenazi, hispanicos e italianos. Los marcadores genéticos que se asocian a la deficiencia en 21-OH en yugoslavos son diferentes, lo que sugiere que en esta población exista una mutación independiente⁷³. La otra asociación HLA-B significativa con la forma no clásica es una disminución en la frecuencia de B35⁷¹.

Es importante destacar que la penetrancia del fenotipo de la deficiencia en 21-OH no es absoluta: la media estimada de la penetrancia del gen 21-OH forma no clásica entre todos los haplotipos con B14 DR1, es del 67%. Así pues, mientras que la mayoría de individuos con haplotipos B14 DR1 manifestarán concentraciones elevadas de 17-OHP en respuesta a la estimulación con ACTH, algunos responderán con normalidad. Aun más, es posible presentar tanto el defecto clásico como el no clásico del gen 21-OH, sin tener uno de los alelos específicos HLA con enlace genético desequilibrado con la deficiencia en 21-OH.

1.2.4.2. El locus 21-OH

Actualmente se admite que todas las formas clínicas del déficit en 21-hidroxilasa están asociadas con una afección del gen que codifica el citocromo P450c21⁷⁴. Éste, descubierto en 1984⁷⁵, se localizó en el brazo corto del cromosoma 6 a 600 Kb del locus HLA-B y a 400 Kb del locus HLA-DR. En realidad existen dos genes, CYP21A y CYP21B situados en tándem después de la porción 3' terminal de los dos genes que codifican el cuarto componente del complemento, C4A y C4B (Fig. 1.14). CYP21B y CYP21A se encuentran muy próximos el uno del otro, a una distancia de 30 Kb. Sus secuencias nucleotídicas tienen tan sólo una diferencia de 87 a 88 pares de bases. Ambos tienen una longitud de 3,4 Kb y contienen 10 exones y 9 intrones. Pero únicamente el gen CYP21B es funcional y codifica al citocromo P450c21, una proteína de 495 aminoácidos y con un peso molecular de 55.829 d. A la inversa, el gen CYP21A se convierte en un pseudogen tras la delección de ocho pares de bases en el tercer exón, la inserción de una base T en el séptimo exón y la transición C en T en el octavo exón

(CAG se convierte en un codón stop TAG). Estas mutaciones impiden la traducción de una proteína normal. Además, un ajuste alternativo permite la transcripción del locus P450c21A en dos RNA mensajeros (mRNA), poliadenilados y específicos de la suprarrenal, que no codifican ninguna proteína, pero que podrían tener un papel en la regulación de la expresión de los mRNA de los genes P450c21B y XB⁷⁶.

Los genes duplicados C4A y C4B son funcionales y codifican proteínas distintas en el plano funcional e inmunológico. El gen C4A de 22 Kb de longitud codifica un mRNA de 5 Kb. El gen C4B existe bajo dos formas, larga de 22 Kb y corta de 16 Kb, por el hecho de la presencia o no de un intrón de 6,8 Kb en la extremidad 5' del gen. Este polimorfismo es utilizado en la identificación de los haplotipos parentales de los niños afectados. Otros genes, igualmente duplicados, también están presentes en esta región⁷⁷ (Fig. 1.14).

1.2.4.3. Lesiones genéticas

La gran mayoría de las mutaciones que causan deficiencia de la enzima 21-hidroxilasa descritas hasta el momento, son el resultado de dos tipos de mecanismos: recombinación asimétrica entre los genes CYP21B y CYP21A en la meiosis, debido a la gran homología entre los fragmentos duplicados C4A-21A-XA y C4B-21B-XB, de 35 Kb de longitud, que explica el apareamiento incorrecto que tiene lugar entre ellos originando duplicaciones, grandes conversiones génicas y deleciones^{72,78} del gen

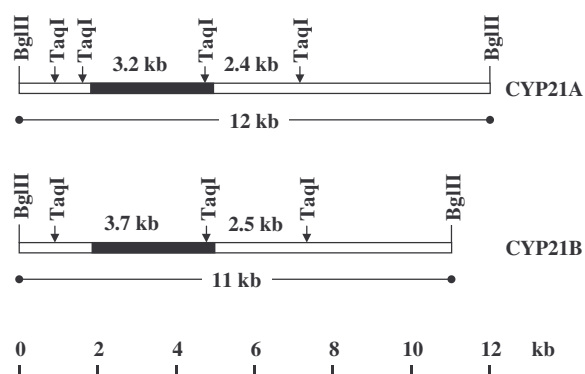


Figura 1.15: Polimorfismos del gen y pseudogen para las enzimas de restricción Bgl II y Taq I.

CYP21B y pseudogen CYP21A; y por otro lado microconversiones génicas^{79,80} que introducen en el gen CYP21B mutaciones puntuales, por transferencia de las mutaciones deletéreas del pseudogen CYP21A, que convierten al gen CYP21B en no funcional. Las mutaciones específicas en el gen dan lugar a una pérdida de la actividad enzimática de la enzima 21-

hidroxilasa más o menos severa, que según su grado se puede correlacionar con las

distintas formas clínicas^{81,82,83}. Todas las formas clínicas están asociadas a una anomalía genética.

Algunas enzimas de restricción nos permiten distinguir los dos genes CYP21 en individuos normales. El análisis de los fragmentos de restricción generados por las distintas enzimas, para los que son polimórficos gen y pseudogen, permite evaluar el número relativo de copias de ambos^{84,85}. De todas ellas, las más útiles para el análisis de este complejo locus son Taq I y Bgl II (Fig. 1.15), si una sonda genómica 3.1-Kb EcoRI/Bam HI es utilizada⁷⁰. Dos puntos idénticos de corte para Taq I, distantes 3.7 Kb, están localizados en los dos genes CYP21. Un punto de corte adicional para Taq I se encuentra en el extremo 5' del DNA del pseudogen CYP21A dando lugar a un fragmento de 3.2 Kb, así diferenciándose éste del gen funcional (fragmento Taq I de 3.7 Kb). Bgl II define una larga región que se extiende desde 1.6 Kb hacia arriba del codón de iniciación de ambos genes CYP21 a 6-7 Kb abajo del punto de poliadenilación. Este último punto de corte de Bgl II es polimórfico, produciendo un fragmento de 12 Kb para el pseudogen CYP21A y de 11 Kb para el gen funcional CYP21B.

Recombinaciones: Mediante la técnica de Southern blot y gracias a estos polimorfismos podemos diferenciar entre el gen funcional y el pseudogen, siendo posible detectar algunas de las alteraciones de los genes CYP21, como son deleciones, conversiones génicas y duplicaciones en pacientes con déficit en 21-hidroxilasa y familiares (Fig. 1.16).

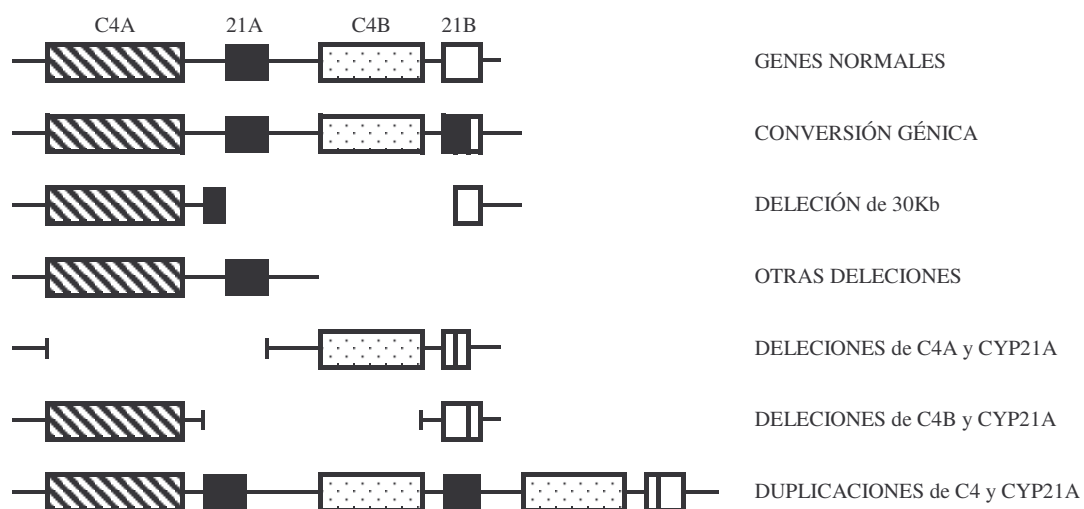


Figura 1.16: Diferentes lesiones de las unidades génicas C4-CYP21 detectadas por Southern Blotting.

En la conversión génica, ambos genes CYP21 están presentes, pero hay un cambio en la estructura del extremo 5' del gen CYP21B, convirtiéndose en la estructura del pseudogen CYP21A. Esto explica la presencia de un adicional punto de corte para la enzima Taq I convirtiendo el fragmento de 3.7 Kb en 3.2 Kb. En contraste, el extremo 3' de este gen convertido, mantiene la estructura del gen CYP21B explicando la presencia del fragmento 11 Kb de Bgl II. Ambos genes C4 se conservan y funcionan normalmente. La conversión génica no se acompaña de pérdida de material genético. En raras ocasiones existe conversión del gen CYP21A en gen CYP21B.

Dos tipos de deleciones del gen CYP21B están descritas en la actualidad. La más frecuente es una importante deleción de alrededor de 30 Kb del DNA, que incluye el extremo 5' del gen CYP21B, el gen C4B y el extremo 3' del gen CYP21A. Tanto en la conversión génica como en la gran deleción, el gen resultante es un híbrido CYP21A/CYP21B cuya extremidad 5' corresponde a CYP21A y la extremidad 3' a CYP21B. Este gen híbrido es un pseudogen ya que contiene la deleción de 8 pares de bases en el exón 3. El porcentaje de deleción/conversión génica varía sensiblemente según los estudios y representa sin duda particularidades étnicas, pero no cambia el perfil general de las anomalías génicas del déficit en 21-hidroxilasa. Otra deleción mucho más rara, hace desaparecer completamente la unidad C4B-CYP21B. La deleción del pseudogen CYP21A a menudo asociada con deleción de cualquiera de los dos genes C4 no es específica de HSC con deficiencia en 21-hidroxilasa, siendo poco frecuente encontrarla.

Otras modificaciones en el pseudogen CYP21A no afectan al gen funcional CYP21B. Entre éstas, la duplicación de los genes CYP21A y C4 que se encuentra a menudo en las formas no clásicas (53 por 100 para Morel *et al.*⁷²). Todo haplotipo HLA-B14-DR1 lleva esta recombinación⁸⁶. Sin embargo, aun cuando esta duplicación se asocia a menudo a la forma NC, también se encuentra en sujetos afectados por otras formas de la enfermedad e incluso en sujetos sanos no heterocigotos⁷⁰.

Teniendo en cuenta que en el individuo el número de copias de un gen es de dos, correspondiendo cada una de ellas a uno de los cromosomas, es importante estimar el número de copias del gen CYP21B en los individuos estudiados. Para ello, se examinan los Southern blots, tanto de Taq I como de Bgl II por separado, en un densitómetro, analizando la intensidad de cada fragmento obtenido. De esta manera, se podrá conocer si en una determinada muestra ha ocurrido deleción del gen en un alelo, en los dos alelos ó si por el contrario, ha habido una conversión del gen funcional a pseudogen.

El empleo de dos o más 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 alguno de los sitios de restricción analizados⁸¹. La conversión de un sitio de restricción hace disminuir la intensidad de la banda asociada a gen o pseudogen según el caso, manteniéndose un patrón normal con las otras enzimas. Mientras que, en las deleciones y duplicaciones, el patrón debe mantenerse para todas las enzimas de restricción. La ausencia de una de las bandas, mantenida para todas las enzimas de restricción, supone que ambos alelos carecen de una de las entidades, sea gen o pseudogen. La reducción de la señal de una de ellas, con respecto a la otra, a la mitad (relación 1:2) implica la existencia de deleción en heterozigosis, de nuevo ésta puede ser del gen o del pseudogen. El incremento en la intensidad de una de las bandas corresponde a la existencia de una duplicación; en este caso, la relación es de 2:3 y puede ser correctamente diferenciada de la relación 1:2 por la densitometría.

Las deleciones han sido descritas en un 20-25% de las formas clásicas y las conversiones grandes del gen en cerca del 10% de las mismas^{74,87,88}.

Hay que tener en cuenta, que únicamente el 25% de los cromosomas de sujetos con déficit en 21-hidroxilasa llevan alteraciones detectables por Southern blot en el gen CYP21B (deleciones, conversiones).

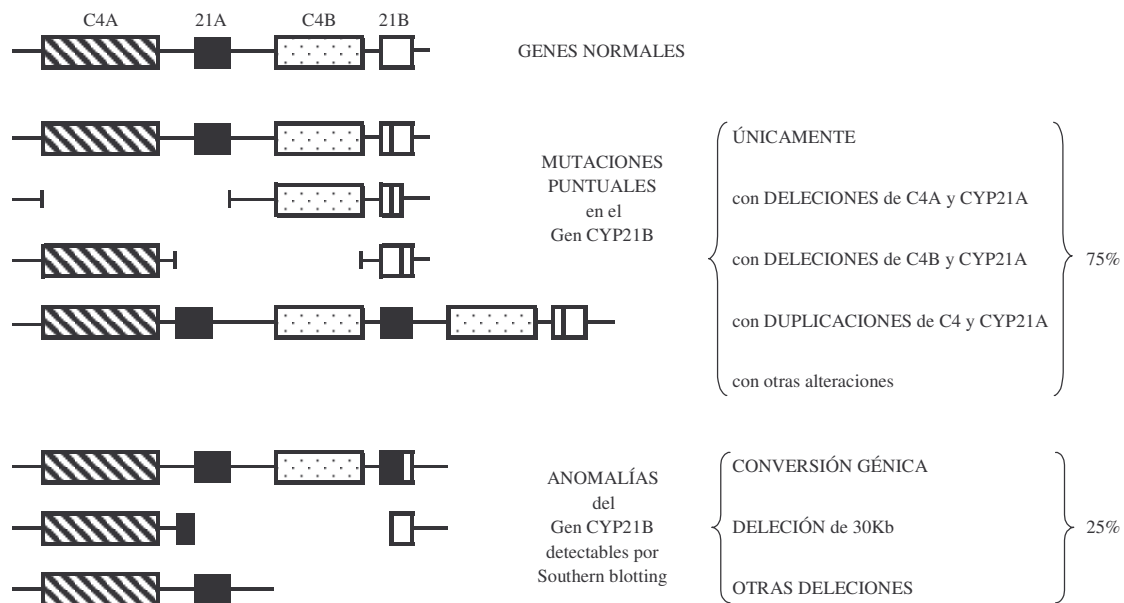


Figura 1.17: Esquemas de reordenamientos genéticos asociados a la HSC por déficit en 21-hidroxilasa.

Mutaciones puntuales: Aproximadamente el 75% restante de los cromosomas estudiados no presentan anomalías del gen CYP21B detectables por el método de Southern, ya que las lesiones responsables del déficit son mutaciones puntuales. Estas pueden estar solas en el gen o asociadas con deleciones, duplicaciones o conversiones génicas del pseudogen CYP21A y el gen C4 (Fig. 1.17).

La mayor parte de las mutaciones puntuales localizadas en el gen CYP21B (Fig. 1.18) proceden de microconversiones que tienen su origen en el pseudogen que, funcionando como un reservorio de mutaciones, transfiere sus bases a las homólogas del gen. También se ha descrito el fenómeno inverso. Estas mutaciones son recurrentes en su mayoría, lo cual significa que si se conocen en el pseudogen, se facilita su búsqueda en el gen.

Las mutaciones del pseudogen CYP21A que, al transmitirse por microconversión génica al gen funcional CYP21B, ocasionan en el mismo pérdida de funcionalidad son:

- Pro30Leu en el exón 1 descrita en formas no clásicas⁸⁹.
- Aparición de un sitio alternativo de procesamiento del mRNA a nivel del intrón 2, en la posición 655, A/C cambia a G en formas severas^{90,91}.
- Delección de 8 pb en el exón 3, codones 110-112 en formas severas⁸⁴.
- Ile172Asn en el exón 4, en formas virilizantes simples^{92,93}.
- Triple mutación de Ile, Val y Met en los codones 236-237-239 a Asn, Glu y Lys en el exón 6 en formas clásicas^{94,95}.
- Val281Leu en el exón 7 en formas no clásicas⁸⁶.
- Inserción de T en el codón 306 del exón 7 no documentada como mutación independiente, se asociaría a formas severas por suponer un desplazamiento de la pauta de lectura de la proteína y aparición de un codón de parada.
- Gln318 codón de parada en el exón 8 en formas severas⁹⁶.
- Arg356Trp en el exón 8 en formas clásicas⁹³.

Además, se han identificado mutaciones en el gen CYP21B que no están presentes en el pseudogen CYP21A, y que por lo tanto no son aparentemente microconversiones génicas, sino mutaciones de tipo clásico^{97,98}. Todas ellas se presentan en casos concretos, individualizados, excepto la Pro453Ser del exón 10⁹⁹, que es frecuente en las formas no clásicas.

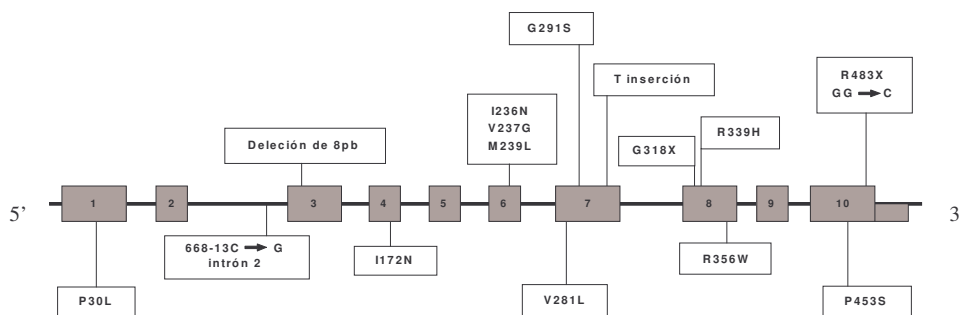


Figura 1.18: Mutaciones puntuales más frecuentes en el gen CYP21B.

Gracias a la estrategia que permite amplificar por PCR únicamente el gen CYP21B y no el CYP21A, es posible determinar la incidencia de cada mutación. El efecto deletéreo en la actividad de la 21-hidroxilasa de cada mutación, fue deducido del análisis de secuencias y de estudios *in vitro* de transfección^{91,95} (Tabla I.V). Las mutaciones que tienen como consecuencia la síntesis de una proteína truncada: delección de ocho pares de bases en el exón 3, inserción de una T en el exón 7 con detención prematura de la fase de lectura, aparición de un codón stop, sustitución de aminoácidos no polares en aminoácidos básicos o ácidos, están ligadas a una forma clásica con pérdida de sal. Todas estas mutaciones suprimen completamente la actividad 21-hidroxilasa *in vitro*⁶².

Otras mutaciones que corresponden a sustituciones de aminoácidos de clase diferente R356W (arginina en triptófano) e I172N (isoleucina en asparagina) dan una proteína que tiene una actividad enzimática muy disminuida *in vitro* (2 por 100 y 3-7 por 100 respectivamente) y también son responsables de formas clásicas⁶².

Por el contrario, la mutación 668-13C → G situada en el intrón 2, que crea un ajuste anormal debería asociarse a una forma severa según los estudios *in vitro* (actividad residual de 0-5 por 100)⁹¹, sin embargo, se ve más bien en las formas virilizantes puras.

Las mutaciones que afectan a los codones 281 y 453 son las más frecuentemente encontradas en las formas NC⁸⁶. La mutación 281, que transforma la valina en leucina, modifica sobre todo la V máx. de la enzima, y siempre se encuentra en un gen funcional CYP21B asociado a la duplicación del pseudogen CYP21A y al haplotipo HLA-B14-

DR1⁷⁰. Las mutaciones que afectan al codón 30 (cambiando prolina en leucina) o al codón 453 (prolina en serina)⁹⁷, disminuyen también en aproximadamente 40-70 por 100 solamente la actividad 21-hidroxilasa.

Tabla I.V: Características de las mutaciones puntuales del gen CYP21B en el déficit de 21-hidroxilasa.

Mutación	Cambio de aminoácido	Cambio de nucleótido	Exón	Actividad 21OH in vitro (%)	Fenotipos asociados	Frecuencia (%)
P30L	Pro-30-Leu	C → T	1	30 - 60	NC / SV	2
Intrón 2	Anormal "splicing"	A,C ₆₅ → G	-	0 - 5	SV / SW	27
Del 8pb	Cambio pauta de lectura	delección de 8pb	3	0	SW	1
I172N	Ile-172-Asn	T → A	4	3 - 7	SV	20
I236N	Ile-236-Asn	T → A	6			
V237G	Val-237-Glu	T → A	6	0	SW	1
M239L	Met-239-Lys	T → A	6			
V281L	Val-281-Leu	G → T	7	20 - 50	NC	6
G291S	Gly-291-Ser	G → A	7	n.d.	SW	<1
T ins	Cambio pauta de lectura	Inserción de T en posición 1761	7	0	SW	<1
G318X	Gln-318-Stop	C → T	8	0	SW	2
R339H	Arg-339-His	G → A	8	20 - 50	NC	<1
R356W	Arg-356-Trp	C → T	8	2	SV / SW	3
P453S	Pro-453-Ser	C → T	10	20 - 50	NC	<1
R483X	Cambio pauta de lectura	GG → C	10	0	SW	<1

SW: Forma clásica con pérdida salina; SV: Forma virilizante simple; NC: Forma no clásica; n.d.: No determinada

Por orden de frecuencia, encontramos la mutación 668-13C → G que crea un ajuste anormal, la mutación I172N asociada a una forma virilizante pura y la mutación V281L asociada a la forma NC. Todas las demás mutaciones son raras (≤ 5 por 100), excepto la mutación G318X y la triple sustitución en el exón 6. También decir, que un mismo cromosoma puede incluir varias mutaciones.

Concluir que las mutaciones derivadas del pseudogen, junto con las delecciones completas del gen y las conversiones grandes, representan aproximadamente el 95% de todos los casos de deficiencia en 21-hidroxilasa. El restante 5% de los casos, son debidos a raras mutaciones, específicas de determinadas poblaciones, las cuales no se producen por interacción con el pseudogen¹⁰⁰. Añadir que la incidencia de mutaciones originadas *de novo* para esta enfermedad, se ha descrito en torno al 1%^{82,101}, aunque una frecuencia superior fue encontrada en la población japonesa¹⁰².

1.2.4.4. Relación fenotipo-genotipo

La importancia de la repercusión de estas mutaciones sobre la actividad enzimática parece proporcional a su repercusión clínica. Para interpretar las relaciones entre genotipo y fenotipo hay que recordar que el fenotipo es el resultado de la combinación de anomalías del gen CYP21B de dos cromosomas. Es lógico anticipar que un paciente homocigoto para una delección o una conversión génica presenta una forma severa con pérdida de sal. Por el contrario, si el paciente es un doble heterocigoto, la mutación menos severa es la que determina el fenotipo¹⁰³. Por ejemplo, en un paciente con una delección del gen CYP21B en un cromosoma, la lesión sobre el otro cromosoma determinará la gravedad de la forma clínica: paciente con riesgo de forma clásica con pérdida de sal si es una mutación que crea un codón stop, de forma virilizante si es la mutación I172N, y solamente de forma NC si es la mutación V281L.

Asimismo, si una de las tres mutaciones asociadas con la forma NC es la única anomalía detectada en uno de los cromosomas de un sujeto afecto del déficit en 21-hidroxilasa, éste debe presentar una forma NC. Con mayor motivo, cualquier paciente homocigoto para una de estas tres mutaciones presenta una forma NC. También es posible encontrar la asociación de una de estas mutaciones sobre un cromosoma, con cualquiera de las lesiones descritas en las formas clásicas sobre el otro cromosoma. Estos sujetos, fácilmente descritos en la literatura como si fueran dobles heterocigotos (compound heterozygotes *mild/severe*), no presentan la forma severa con pérdida de sal.

En todos los casos es importante asegurarse de que la mutación en cuestión es la única que afecta al gen CYP21B, pues la asociación de varias mutaciones siempre da un fenotipo más severamente afecto.

Por último, una causa importante a tener en cuenta que da lugar a erróneos genotipos, es la descrita como “allele dropout” (desigual amplificación por PCR de diferentes alelos). Por lo que se recomienda, siempre que sea posible, estudiar a los progenitores y, llegado el caso, descubrir el falso resultado mediante un estudio de ligamiento, a través de los microsatélites cercanos al locus del gen CYP21B^{104,105}.

1.2.5. DIAGNÓSTICO

1.2.5.1. Epidemiología

El déficit en 21-hidroxilasa representa el 90-92 por 100 de todas las causas de HSC. La incidencia de la enfermedad es por término medio de 1:14.000 nacimientos, con marcadas variaciones étnicas (Tabla I.IV). Por regla general, una de cada 60 personas es heterocigota para un alelo dando una forma clásica (excluyendo la Isla de la Reunión donde esta frecuencia es de 1/23). La primera síntesis de la experiencia mundial de detección neonatal informa que el 75 por 100 de las formas clásicas detectadas eran formas clásicas con pérdida de sal¹⁰⁶. La frecuencia de las formas NC es considerablemente más elevada. Se ha estimado en 1/1.000 en la población blanca, y mucho más elevada en los judíos Ashkenazi 1/27; 1/53 para hispanicos; 1/63 para yugoslavos y 1/333 para italianos (Fig. 1.19)^{71,107,108}. Las correspondientes frecuencias para heterocigotos son: 1/3 para judíos Ashkenazi; 1/4 para hispanicos; 1/5 para yugoslavos; 1/9 para italianos y 1/14 para otros individuos de raza blanca. Las frecuencias citadas anteriormente se refieren a la población general; la incidencia de forma no clásica es aun más alta en poblaciones preseleccionadas por presentar síntomas o signos de hiperandrogenismo.

No hay duda alguna de que una pubarquia prematura, con todas sus características clínicas y biológicas, pueda deberse a un déficit NC en 21-hidroxilasa en un reducido número de niños¹⁰⁹. Esta etiología no parece ser tan frecuente como se dijo por algunos. Se ha puesto incluso en duda¹¹⁰, variando según las series de un 5 por 100 a más de un 20 por 100^{111,112,113}. Basados en el análisis global de los casos de pubarquia prematura publicados, se estima en un 6-8 por 100¹⁰⁹.

Ocurre lo mismo en el marco del hirsutismo idiopático en la mujer joven. Que esté directamente ligado a una forma NC del déficit en 21-hidroxilasa es sin duda alguna una eventualidad, pero sigue siendo más bien raro, no superando el 5-6 por 100 de las mujeres jóvenes que consultan por hirsutismo¹¹⁴. El diagnóstico de la afección es pues esencialmente biológico.

De hecho, sólo los estudios de biología molecular permitirán dar una frecuencia exacta de las formas NC del déficit en 21-hidroxilasa, y la frecuencia de las que son causa de pubarquia prematura o hirsutismo idiopático.

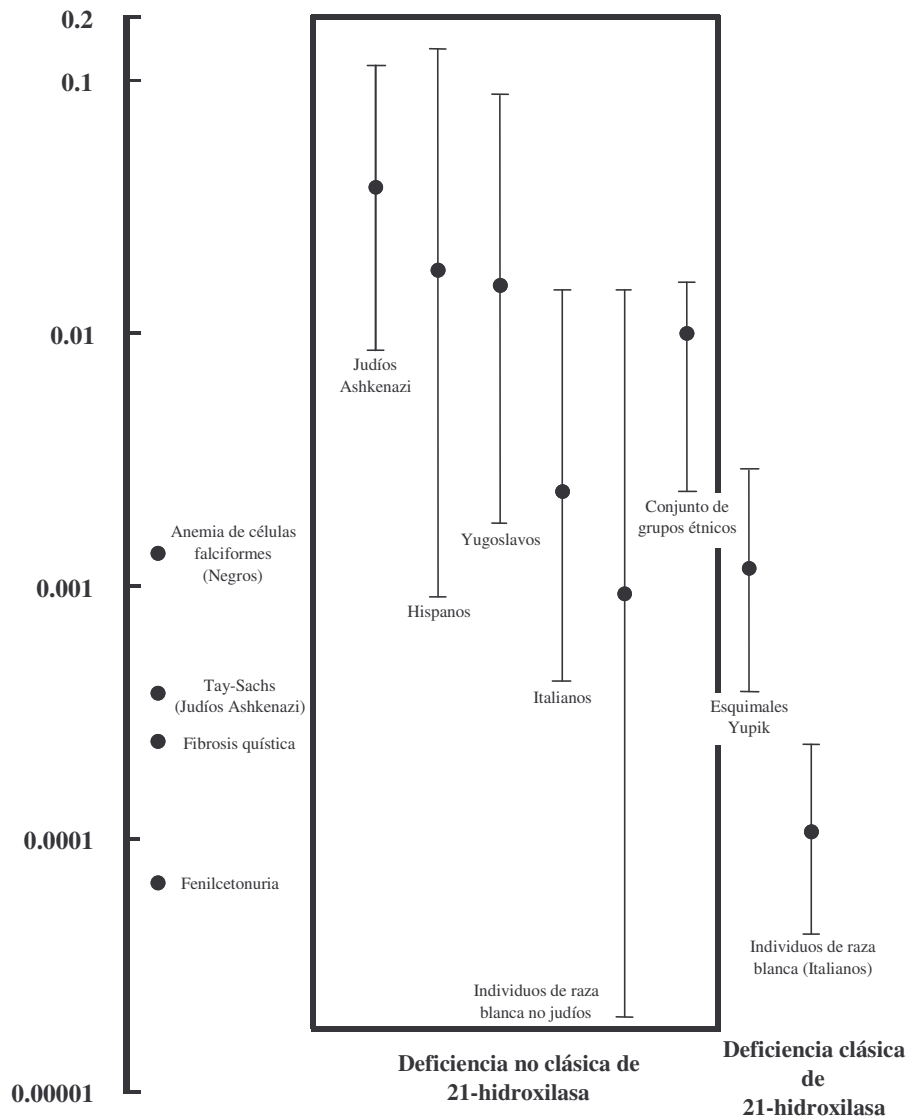


Figura 1.19: Frecuencia de la deficiencia clásica en 21-OH y no clásica, en relación a otras alteraciones genéticas autosómicas recesivas frecuentes. Las barras representan el intervalo de confianza al 95%.

1.2.5.2. Biología hormonal

El diagnóstico de un déficit en 21-hidroxilasa se realiza sobre la base de criterios biológicos. Está establecido desde hace tiempo que, como en cualquier déficit de la biosíntesis esteroidea, hay una acumulación de esteroides situados por encima del bloqueo enzimático, la 17-OHP en el déficit en 21-hidroxilasa (Fig. 1.11).

a) *Tasas plasmáticas basales de 17-OHP.* En las formas clásicas del déficit de 21-hidroxilasa, el aumento de las tasas plasmáticas basales de 17-OHP es tal (>150 a 1.500 nmol; es decir, >5.000 a 50.000 ng/L) que es diagnóstica, incluso si las tasas de progesterona y andrógenos suprarrenales están igualmente elevadas. El diagnóstico no

debe hacerse en la sangre del cordón (tasas de 17-OHP elevadas de 30-90 nmol/L, es decir, 1.000 a 3.000 ng/dL, pero que representa a más del 80 por 100 de la sangre venosa placentaria). La interpretación tendrá en cuenta la edad gestacional y cronológica del niño en el momento de la toma de sangre. Las tasas de 17-OHP en sangre periférica son normalmente elevadas al nacer (15-25 nmol/L; es decir, 500-800 ng/dL), disminuyendo rápidamente, aproximadamente cinco veces, el segundo día de vida. En el prematuro, las tasas de 17-OHP pueden ser de dos a tres veces más elevadas al nacer¹¹⁵, y permanecer elevadas durante algunas semanas.

En las formas NC, el bloqueo es menos severo, e igualmente la acumulación de los marcadores del bloqueo es inferior. Las tasas de 17-OHP pueden ser muy variables en un mismo individuo en función de la hora^{65,116,117} o del estrés en el momento de la toma de sangre, e incluso de la fase del ciclo menstrual. Las tasas pueden ser muy elevadas y diagnósticas, medianamente elevadas como las que podemos encontrar en el síndrome de los ovarios poliquísticos o incluso normales¹¹⁸. Chetkowski *et al.*¹¹⁹ insisten en la amplitud del ritmo nictemeral, que conduce las tasas de 17-OHP en los límites de la normalidad durante una gran parte del día, es decir, todo el nictémero excepto entre las cuatro y ocho horas de la madrugada. A pesar de la gran variabilidad descrita en la literatura, la determinación de las tasas de 17-OHP no deja de ser un test de detección muy útil, a condición de ser muy estrictos en las condiciones de la extracción que debe realizarse a las ocho horas de la mañana y en fase folicular precoz en la mujer.

En la práctica, si la tasa basal de 17-OHP es superior a 30 nmol/L (es decir, \approx 1.000 ng/dL), el diagnóstico está hecho. Si esa tasa está comprendida entre 10 y 30 nmol/L (es decir, entre 330 y 1.000 ng/dL), se aconseja un nuevo control. Si es inferior a 10 nmol/L (330 ng/dL), sólo se saldrá de dudas con un test de estimulación con ACTH. Este límite de 10 nmol/L es razonable, pues permite englobar una buena parte de las variaciones interlaboratorios, situándose un poco más alto que la tasa de 7,5 ó 9,1 nmol/L dada por ciertos autores^{65,119} como el valor máximo encontrado en la mujer que presenta una hipersecreción ovárica de esta hormona.

Se ha propuesto dosificar la 17-OHP en la saliva¹¹⁷ con el fin de minimizar el estrés. Esta aproximación puede ser útil, pero al ser mucho más bajas las tasas de 17-OHP hay que disponer de una metodología más estricta para su dosificación. Ocurre algo similar si la dosificación se realiza mediante extracción de gota de sangre en papel secante¹¹⁶.

b) *Las demás hormonas esteroideas no ayudan al diagnóstico.* Las tasas plasmáticas de aldosterona son variables, incluso en las formas clásicas con pérdida de sal. Pueden estar disminuidas o elevadas. Sólo tienen valor respecto al grado de aumento de las tasas de ARP.

En la niña pequeña que presenta una forma NC, las tasas basales de dehidroepiandrosterona sulfato (DHAS) pueden estar muy aumentadas y el cuadro clínico-biológico mimetizar una adrenarquia^{111,113}. Un test de frenación con dexametasona es inútil, pues en los dos casos la hiperproducción de DHAS, de origen suprarrenal, se puede frenar^{109,113,120}. El diagnóstico positivo se basa en la determinación sistemática de la tasa de 17-OHP en condiciones basales, o tras estimulación con ACTH si hay dudas^{111,113,121}.

En el adolescente o el adulto que presente una forma NC de déficit en 21-hidroxilasa, las tasas basales de testosterona, de Δ^4 y de DHAS son variables, moderadamente aumentadas o subnormales.

c) *Las tasas de ACTH plasmática y de ARP.* Están muy elevadas en las formas clásicas. Por el contrario en las formas NC, la ACTH está más o menos elevada, o incluso normal, en función del nictémero y/o del estrés, y las tasas de ARP son en general normales.

d) *Test de estimulación corto de la ACTH.* Es inútil para el diagnóstico de las formas clásicas. Numerosos autores han preconizado su utilización para el diagnóstico de las formas NC de déficit en 21-hidroxilasa, pero los protocolos utilizados han variado considerablemente ya sea en la duración del test, o en el modo de administración¹²². Variaciones significativas en las técnicas de dosificación utilizadas, añadidas a la gran variabilidad de los criterios de análisis de los tests, hacen que los datos de la literatura sean heterogéneos.

El análisis del test ACTH se ha hecho o sobre las tasas máximas (pico) de 17-OHP observadas a los 30 minutos¹²³ o 60 minutos tras inyección de Synacthen¹²⁴; o el Δ de respuesta de 17-OHP a los 30 minutos¹²⁵ o 60 minutos, sólo o agregado al Δ de respuesta de P¹²⁶; o la producción por minuto en ng/dL, o sobre un Nomograma relacionando los valores al final del test con los valores basales¹²⁷, o el pico o el Δ de respuesta tras administración de dexametasona la víspera por la noche¹²⁸.

La administración de dexametasona la víspera del test de la ACTH disminuye las tasas basales (elimina la influencia del estrés), pero no modifica el pico de respuesta.

Sólo tiene interés si el test es analizado en Δ de respuesta. La respuesta máxima no se modifica con la administración previa de dexametasona¹²⁸. En la práctica, sobrecarga el test y no mejora su interpretación.

Actualmente, el test más corrientemente utilizado es un test corto que puede realizarse de forma ambulatoria según el siguiente protocolo: inyección en bolo (intravenosa o intramuscular) de una ampolla (0,25 mg) de ACTH sintética, con determinación de las tasas de 17-OHP sérica antes de la inyección (tiempo 0) y 30 o 60 minutos más tarde. Se

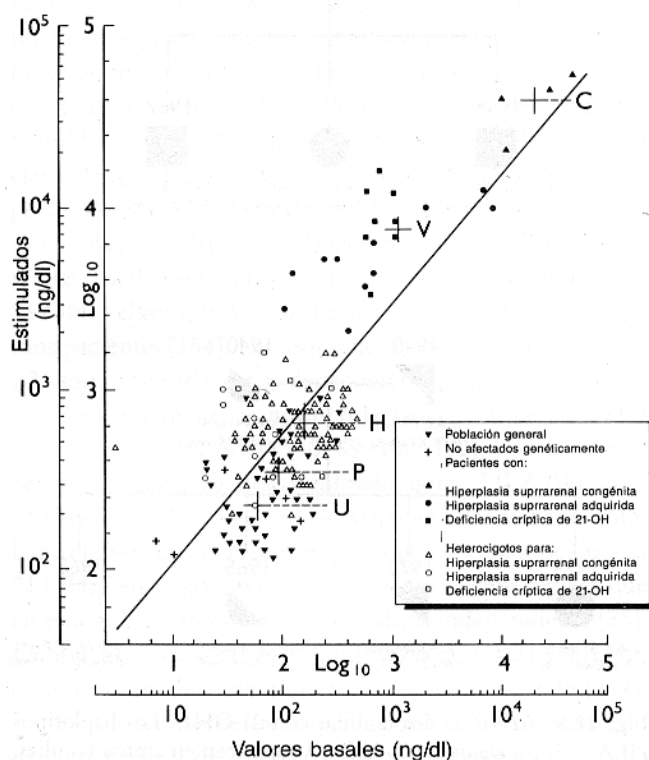


Figura 1.20: Nomograma con las concentraciones basales de 17-OHP sérica y las obtenidas 60 minutos tras el estímulo con ACTH. Los valores medios para cada grupo se indican: “C: hiperplasia suprarrenal congénita”; “V: pacientes con déficit de 21-hidroxilasa no clásica sintomática o asintomática”; “H: Heterocigotos para la deficiencia de 21-hidroxilasa clásica o no clásica”; “U: miembros de la familia no afectados por tipaje HLA”; “P: población general no tipada para HLA”.

Se pueden realizar tiempos intermedios o más tardíos¹²⁸. Los valores basales respecto a los obtenidos tras el estímulo se valoran en un Nomograma de referencia (Fig. 1.20)¹²⁷. Las parejas de resultados hormonales se distribuyen en grupos fácilmente diferenciables en una recta de regresión, con el siguiente orden descendente: pacientes con forma clásica de déficit en 21-hidroxilasa, heterocigotos para la forma clásica o no clásica de déficit en 21-hidroxilasa y miembros normales de la familia tipados para HLA. La población general utilizada para la formación de este Nomograma no estaba tipada para HLA, ya que el tipaje HLA debe relacionarse con el genotipo

del caso índice y por lo tanto representa una combinación de heterocigotos y sujetos no afectados genéticamente.

La indicación del test de la ACTH está igualmente sujeta a controversia en la literatura¹²⁹. Es razonable para toda mujer que presente un cuadro evocador en el que las tasas basales de 17-OHP por la mañana en fase folicular sean superiores a 6-10 nmol/L. Igualmente se aconseja fuertemente practicarlos en los padres y familiares de cualquier sujeto afecto por la forma clásica o no clásica con el fin de detectar las formas crípticas, en particular en los sujetos del sexo masculino y poder realizar un consejo genético en parejas jóvenes¹²⁴. La interpretación, en general, se basa en el pico de respuesta de la 17-OHP. Para la gran mayoría de los autores^{65,122,123,125}, se trata de una forma NC de déficit de 21-hidroxilasa si el pico de respuesta a los 30 minutos o 60 minutos es superior a 30-60 nmol/L (es decir, 1.000 a 2.000 ng/dL). La única excepción es la de New *et al.*¹²⁷ que ponen el límite en 60 nmol/L (o sea, 2.000 ng/dL).

La tasa de 17-OHP permite por sí misma el diagnóstico de la forma NC de déficit en 21-hidroxilasa, y los valores observados al final del test se sitúan prácticamente siempre por encima de la barra de 60 nmol/L propuesta por New *et al.*¹²⁷, con la condición de que el test se haya practicado antes de cualquier tratamiento. La dosificación de 21-desoxicortisol, un metabolito normalmente producido en cantidad despreciable por 11-hidroxilación directa de la 17-OHP, se ha propuesto para confirmar el diagnóstico¹³⁰, pero este parámetro biológico sólo es útil para poner en evidencia los heterocigotos.

Es interesante saber que los sujetos que presentan una forma NC tienen una respuesta exagerada de las tasas plasmáticas de 21-desoxicorticosterona a la estimulación con ACTH¹³¹.

1.2.6. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Conviene hacer un diagnóstico etiológico exacto para diferenciar los bloqueos de 21-hidroxilasa menores no solamente, de los demás bloqueos enzimáticos de la esteroidogénesis, sino también de otras causas de hiperandrogenia, para enfocar el tratamiento que mejor se adapte a la situación fisiopatológica.

En efecto, las tasas de 17-OHP pueden estar elevadas en ciertos tumores¹³², como en otros déficits enzimáticos, en 11 β -hidroxilasa o en 3 β -HSD en particular¹³³.

El diagnóstico etiológico exacto es importante realizarlo en el marco de un consejo genético. Se basará en la determinación de otras hormonas esteroideas cuya elevación basal o tras ACTH es relativamente más importante que la de la 17-OHP.

1.2.7. TRATAMIENTO

1.2.7.1. Principios del tratamiento

El tratamiento es sustitutivo y consiste en reemplazar las hormonas deficientes, lo cual es indispensable, en las formas severas, para la supervivencia del niño. Los objetivos del tratamiento son frenar la hiperandrogenia, corregir el déficit mineralcorticoide y evitar una depleción sódica, asegurar un crecimiento normal con el fin de permitir que la pubertad, el desarrollo de la función gonadal y posteriormente de la función reproductora se realicen normalmente.

a) *Tratamiento glucocorticoide.* Aunque está establecido desde 1951^{134,135} que la administración de cortisona, o mejor de hidrocortisona, permite frenar la secreción de ACTH y, por tanto, la producción de andrógenos, el tratamiento de la HSC sigue siendo difícil y sus modalidades algo controvertidas. El equilibrio entre una subdosificación y una sobredosificación es delicado, y más aún cuando el modo de administración de los glucocorticoides no es del todo fisiológico. La talla definitiva está comprometida a la vez por una sobredosificación (retraso del crecimiento, sobrecarga ponderal), aun en ausencia de signos de Cushing, y por una subdosificación (control insuficiente de la hiperandrogénia); de ahí el cierre prematuro del cartílago de crecimiento. Una sobredosificación, un inicio tardío o una mala observancia del tratamiento son suficientes para explicar los malos resultados observados en términos de talla definitiva en las series antiguas¹³⁶. Por ello se ha sugerido disminuir las dosis¹³⁷, fraccionarlas¹³⁸ o utilizar una terapia alterna¹³⁹. Las dosis utilizadas, el glucocorticoide utilizado (hidrocortisona, prednisolona, dexametasona), y el modo de administración (dos o tres tomas iguales, o tres cuartos de la dosis al acostarse) varían según los autores¹⁴⁰.

La dosis de 10-20 mg de hidrocortisona en dos o tres tomas al día recomendada por los expertos, se basaba en estudios clásicos que estimaban la secreción diaria de

cortisol en 12,5 mg/m²/día. Estudios más recientes, tienden a demostrar que esta tasa de secreción diaria sólo es de 7 ± 2 mg/m²/día¹⁴¹ e incluso de cinco a seis solamente¹⁴². Los pediatras comienzan a tomar conciencia de que una dosis de solamente 6-8 mg de hidrocortisona al día, debería utilizarse a largo plazo para la conservación del capital de crecimiento. Es difícil, e incluso imposible, tener un buen control de la hiperandrogenia con estas dosis. Este control sigue siendo necesario para proteger el ovario de una evolución hacia la poliquistosis. Las terapias adyuvantes que se han utilizado sucesivamente en los casos difíciles de controlar con dosis aceptables (≤ 30 mg/m²(día) de hidrocortisona (medroxiprogesterona, ciproterona acetato o ketoconazol) se han mostrado decepcionantes (aumento excesivo de peso, escape a la frenación)¹³⁸. Están en estudio protocolos que utilizan una terapia adyuvante más eficaz (antiandrógenos, antiestrógenos y nifedipino).

b) *Tratamiento mineralcorticoide*. Sólo está indicado en las formas clásicas. En periodo neonatal, el síndrome de pérdida de sal requiere un aporte hídrico y sódico inmediato. Cuando el tratamiento oral no es posible, podemos paliar las necesidades en mineralcorticoides mediante dosis suprafisiológicas de hidrocortisona y un suplemento de sal. En efecto, 20 mg de hidrocortisona tienen un efecto mineralcorticoide equivalente al de 0,1 mg de 9α-fluorhidrocortisona. Las necesidades en mineralcorticoides son esencialmente las mismas sea cual sea la talla del sujeto (0,05-0,15 mg/día), a excepción del lactante, relativamente insensible a la acción de los mineralcorticoides, que necesita dosis más importantes. La dosis de mantenimiento habitual es de 70-90 µg/m²/día. Hay que recordar que un mineralcorticoide sólo es útil si el riñón recibe suficiente sodio. Por ello es necesario un suplemento de sal. La adición de un mineralcorticoide permite reducir las dosis de glucocorticoides, incluso en las formas denominadas virilizantes puras con pérdida de sal compensada (ionograma normal, ARP elevada).

c) *Parámetros de vigilancia*. Deben ser clínicos (edad ósea, peso y talla) y biológicos (concentraciones plasmáticas de 17-OHP, testosterona, Δ⁴ y ARP o renina activa)¹³⁷. La dosificación de la ACTH plasmática a menudo no se utiliza de rutina, pues es difícil realizarla en buenas condiciones. La adaptación del tratamiento a las necesidades del niño se hará siguiendo tres reglas de base: hacer el balance biológico sin ningún estrés y/o enfermedad intercurrente incluso banal, no modificar simultáneamente las dosis de glucocorticoides y las de mineralocorticoides, y cerciorarse de que la dosis

de mineralcorticoides sea suficiente antes de aumentar la dosis de glucocorticoides. Los controles se harán cada tres meses en el niño pequeño y bianualmente después de 3-4 años. Si el tratamiento se juzga incorrecto, se realizará un balance dos semanas después de la modificación terapéutica. La tasa de andrógenos debe mantenerse en la zona normal para la edad. Por el contrario, querer llevar la 17-OHP a los límites de la normal es exponerse a una sobredosificación. Las tasas de 17-OHP por la mañana indican una sobredosificación sí < 3 nmol/L (100 ng/dL) y una subdosificación sí > 25 nmol/L (800 ng/mL). Una elevación de la tensión arterial indica una sobredosificación en mineralcorticoides.

1.2.7.2. Indicaciones y conducta práctica

a) *Formas clásicas.* Todos los niños afectados de forma clásica con o sin pérdida de sal deben recibir un tratamiento mixto de glucocorticoides y mineralcorticoides. Los pediatras prefieren utilizar hidrocortisona (10 a 15 mg/m²/día) mejor que dexametasona, que a la dosis de 0,3 mg/m²/día puede tener efectos secundarios severos e incluso irreversibles (sobrepeso, estrías)¹⁴³. Ciertos autores utilizan la prednisona (a la dosis de 6 mg/m²/día). Se ha recomendado administrar la mitad o los 2/3 de la dosis por la noche al acostarse¹⁴⁴, con el fin de disminuir el pico de secreción de la ACTH que se observa normalmente a las 2-4 horas de la madrugada. Esto permite un mejor control de la tasa de 17-OHP por la mañana.

El diagnóstico es cada vez más precoz desde la puesta en marcha de la detección neonatal. El recién nacido, presenta una hiperplasia de las suprarrenales tardando cierto tiempo en normalizarse. Por ello se ha preconizado administrar dosis más elevadas al principio del tratamiento, con el fin de obtener una correcta frenación más rápidamente. Esta actitud no ha sido adoptada por todos los autores¹⁴⁵.

b) *Formas no clásicas.* Las indicaciones terapéuticas aparecen en función de los síntomas predominantes y de la edad. Si el diagnóstico se realiza en un niño que presenta una gran talla y/o una adrenarquia precoz, el tratamiento sustitutivo con hidrocortisona está indicado para frenar la hiperandrogenia, causa de un adelanto de la edad ósea que compromete el pronóstico de talla adulta de estos niños. Estas formas NC de manifestación relativamente precoz, son ciertamente más severas que las que se manifiestan en la edad adulta. Sin embargo, estos niños no presentan pérdida de sal asociada, por lo que no hay indicación alguna de tratamiento mineralcorticoide.

Únicamente las tasa de 17-OHP y la de Δ^4 son útiles para vigilar el tratamiento; la ACTH y la ARP no lo son. Lo más frecuente es que sea un tratamiento de por vida.

Si la enfermedad no se inicia hasta el periodo peripuberal, la situación es totalmente diferente. En la niña muy joven puede verse una mejoría espectacular de los síntomas clínicos de hiperandrogenia (acné, trastornos menstruales), con el tratamiento glucocorticoide sustitutivo. Si los endocrinólogos de adultos prescriben preferentemente la dexametasona (0,5-1 mg/día), los pediatras prefieren utilizar la hidrocortisona (12,5 mg/m²/día). Al no acompañarse tampoco estas formas de un déficit mineralcorticoide, no es necesario añadirlos al tratamiento. Por el contrario, si el síntoma clínico mayor es el hirsutismo, el tratamiento con glucocorticoides se revela a menudo decepcionante en el plano clínico, aun cuando normalice el perfil biológico. La utilización de un antiandrógeno, asociado o no con estrogenoterapia clásica¹⁴⁶, da mejores resultados.

Las formas crípticas no justifican tratamiento alguno, salvo en caso de aparición de síntomas, lo cual puede revelar una reevaluación periódica. Un tratamiento adaptado estará entonces indicado.

c) *Situaciones particulares. Descompensación aguda o síndrome de pérdida de sal.* Su tratamiento sintomático viene dictado por los desórdenes biológicos y es idéntico al empleado en la insuficiencia suprarrenal aguda.

Tratamiento de cobertura. Es necesario en caso de estrés o infección intercurrente: se doblan las dosis de hidrocortisona o se indica una inyección intramuscular de 100 mg de hidrocortisona en caso de temperatura > 38,5°C; en caso de vómitos sobreañadidos, se aconseja una inyección intramuscular de 5 mg de DOC (syncortil).

El Tratamiento de cobertura es imperativo en caso de intervención quirúrgica, incluso benigna, con anestesia general.

1.2.8. EVOLUCIÓN

En los niños tratados incorrecta o tardíamente, la pubertad no puede iniciarse normalmente debido al retrocontrol que ejercen los andrógenos suprarrenales sobre el eje gonadotropo. Esta inhibición deja de ejercerse con la iniciación del tratamiento y puede seguirse de un cuadro de pubertad precoz central, que requiere un tratamiento apropiado con análogos del GnRH.

El cumplimiento del tratamiento es necesario para asegurar no sólo un crecimiento normal, sino también una función gonádica normal. La niña que no sigue bien su tratamiento presenta trastornos menstruales, acné, hirsutismo y ovarios poliquísticos. En los niños afectados de HSC que no toman correctamente su tratamiento, la hipersecreción de ACTH puede estimular el crecimiento de residuos suprarrenales ectópicos. Estos niños tienen testículos grandes, en general nodulares¹⁴⁷. El diagnóstico es difícil si se desarrolla un tumor unilateral, por la similitud histológica entre estos tumores y un adenoma testicular. Lo más habitual es que la talla y la secreción de estos residuos ectópicos suprarrenales disminuyan y se produzca la espermatogénesis con un tratamiento adecuado, pero no siempre¹⁴⁸. Tratados o no, estos tumores testiculares son en general benignos. La patología intercurrente de un tumor maligno de testículo es excepcional¹⁴⁹.

La fertilidad es posible en los dos sexos, cuando el tratamiento se hace correctamente. En la niña la tasa de fertilidad parece más baja que en la población general¹⁵⁰, pero es difícil diferenciar la parte del impacto psicológico de la malformación de los OGE, de la calidad de la cirugía reparadora en el comportamiento sexual¹⁵¹. En el niño la fertilidad parece mucho mejor¹⁵², aun en ausencia de tratamiento, lo que ha planteado la discusión sobre la necesidad de seguir con el tratamiento en el hombre adulto.

1.2.9. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO

La reparación quirúrgica de las malformaciones genitales da actualmente resultados bastante satisfactorios lo que, junto a la posibilidad de una función ovárica normal, constituyen los argumentos mayores para tomar la decisión de que en todos los casos las niñas afectas sean educadas en el sexo civil femenino. La disposición del seno urogenital se aprecia por genitografía, uretroscopia o uretrografía miccional. La dificultad es mayor en los estadios V de Prader, donde no siempre se puede visualizar la vagina. La técnica de imagen es muy útil para confirmar la presencia de útero y trompas, pero es difícil en el recién nacido. El cariotipo debe investigarse siempre para aportar a los padres la prueba del sexo genético del niño y afianzarles en la decisión de un sexo civil femenino sin reserva alguna.

La hipertrofia del clítoris se trata con cliteroplastia. La vaginoplastia puede realizarse en el mismo tiempo operatorio. Cirujanos, pediatras y psicólogos coinciden en el deseo de que la intervención se realice lo antes posible (2-3 meses), lo que reduce la frecuencia de infecciones urinarias. Sin embargo, muy a menudo es necesaria una reintervención complementaria a la edad de la pubertad, para corregir la estenosis del orificio vaginal y permitir unas relaciones sexuales satisfactorias. La ambigüedad sexual sigue siendo una causa de dificultades psicológicas profundas para el propio niño y para su familia, en particular para sus padres, a los que les resulta difícil afrontar la situación^{151,153}. Por ello se ha propuesto un tratamiento antenatal.

1.2.10. CONSEJO GENÉTICO

El consejo genético debe realizarse en toda familia con un niño afecto de HSC. Este consejo genético deberá aportar a los padres toda la información disponible sobre la enfermedad, su evolución, su transmisión y las posibilidades de diagnóstico y tratamiento prenatal.

El diagnóstico y tratamiento prenatal no están indicados, salvo que exista el riesgo para una pareja, de tener un niño afecto de una forma clásica del déficit. Este riesgo, debe valorarse a ser posible antes de adoptar la decisión de iniciar un embarazo. La conducta a tener en cuenta deriva naturalmente de la correlación clínico-genética.

Si el caso índice es un niño de la pareja que presenta una forma clásica, los padres tendrán el riesgo de tener otro niño afecto, y se practicará un diagnóstico prenatal tras haber puesto en evidencia las mutaciones del CYP21B en ambos progenitores. El estudio genético irá precedido de la determinación de las tasas de 17-OHP para que no pase desapercibida una forma críptica en uno de los progenitores, lo que cambiaría totalmente la predicción.

Si el caso índice es uno de los progenitores, el estudio genético se practicará igualmente antes de cualquier diagnóstico prenatal y se identificarán las mutaciones en los dos cromosomas. Si este progenitor está afecto por una forma clásica o si uno de los padres afecto de forma NC presenta una mutación grave en uno de los dos cromosomas, habrá que investigar si el futuro cónyuge es heterocigoto mediante un test de ACTH con dosificación de 21-desoxicortisol. Si este cónyuge es heterocigoto, se investigarán entonces las mutaciones. No será necesario un diagnóstico prenatal en caso de

mutaciones poco severas (forma NC); ocurre lo mismo con mayor motivo si el cónyuge es homocigoto sano. Cualquier diagnóstico prenatal es entonces inútil.

1.2.11. DIAGNÓSTICO PRENATAL

La comprobación de tasas elevadas de 17-OHP en el líquido amniótico de madre con un feto afecto de déficit en 21-hidroxilasa, ha abierto la vía del diagnóstico prenatal de esta afección¹⁵⁴. La comprobación de la relación genética con HLA ha aportado una segunda aproximación diagnóstica. Durante algunos años el diagnóstico prenatal se ha hecho tras amniocentesis practicada a mediados de la gestación utilizando, por una parte, la determinación de las concentraciones de hormonas esteroides en el líquido amniótico y, por otra parte, el cariotipo y el tipaje HLA de los amniocitos cultivados^{155,156}.

El perfeccionamiento y la generalización de las punciones de las vellosidades coriales (PVC)¹⁵⁷ ha permitido realizar un diagnóstico prenatal en el primer trimestre y, por tanto, reducir en varias semanas la duración de los tratamientos prenatales innecesarios en caso de feto masculino o femenino no afecto. El diagnóstico prenatal se ha basado primeramente en el tipaje HLA de fragmentos trofoblásticos cultivados¹⁵⁸.

El desarrollo de las técnicas de biología molecular realizadas directamente a partir del DNA extraído de fragmentos de PVC, ha permitido aumentar la fiabilidad del diagnóstico prenatal. Una vez realizado el estudio familiar, el diagnóstico prenatal es posible mediante investigación directa de las lesiones génicas de la familia en cuestión. El diagnóstico del sexo (parte integrante del diagnóstico prenatal), basado durante mucho tiempo en el cariotipo de las células fetales, puede realizarse también mediante amplificación de las regiones específicas del cromosoma Y (gen SRY) a partir del DNA extraído de la PVC. Este diagnóstico se realiza a las 10-12 semanas de gestación y los resultados pueden obtenerse en 2-3 días (Fig. 1.21).

Por otro lado, el estudio directo de la región C4-CYP21, asociado a la detección de los heterocigotos (test de ACTH) en uno de los cónyuges, permite realizar un diagnóstico prenatal en una pareja de riesgo, pero que aún no hayan tenido hijos, o sea, en ausencia de caso índice.

Sin embargo, aunque la PVC permite un diagnóstico prenatal más precoz que la amniocentesis, el inconveniente es un mayor riesgo de muerte fetal (0,5-1 por 100 *versus* 0,3 por 100¹⁵⁷). Por ello y dado que se trata de embarazos muy deseados, ciertos

padres rechazan esta forma de diagnóstico prenatal y prefieren la amniocentesis, e incluso a veces rechazan cualquier diagnóstico prenatal¹⁵⁹.

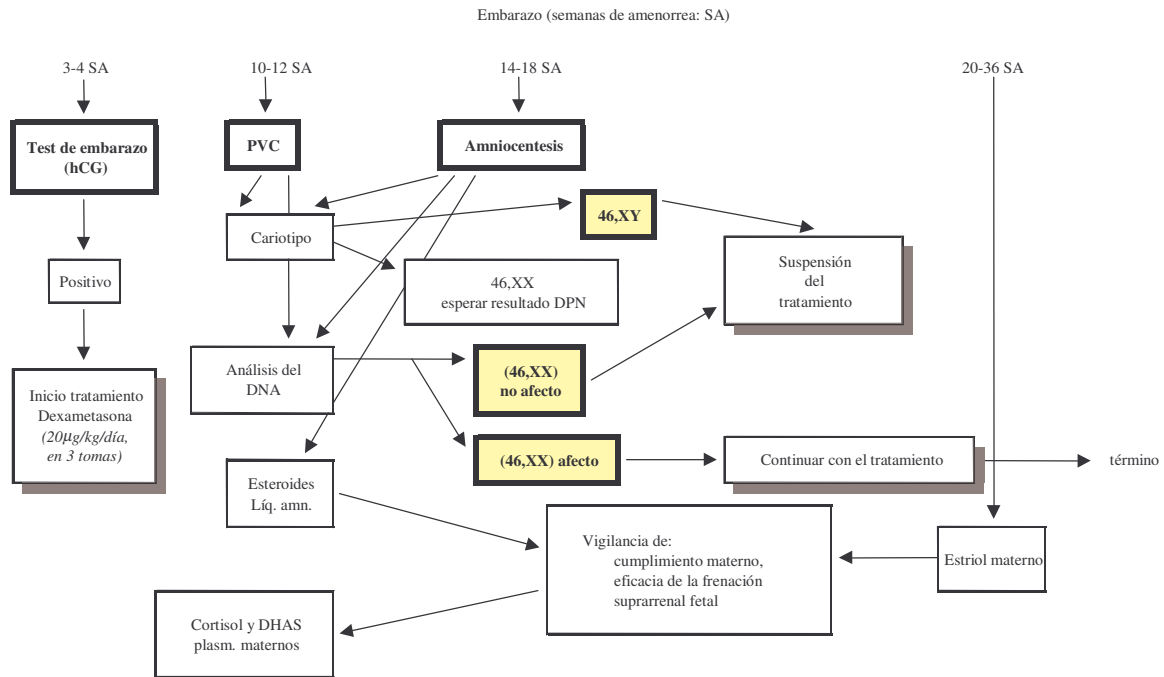


Figura 1.21: Estrategia diagnóstica y tratamiento prenatal en una madre con riesgo de tener un niño afecto por la forma clásica del déficit en 21-hidroxilasa. hCG: gonadotropina coriónica humana; PVC: punción de las vellosidades coriales; DPN: diagnóstico prenatal; líq. amn.: líquido amniótico; plasm: plasmático.

1.2.12. TRATAMIENTO PRENATAL

Una complicación mayor de la forma clásica del déficit en 21-hidroxilasa, ya sea con o sin pérdida de sal, es la ambigüedad sexual que presentan al nacer las niñas afectas de HSC. Este es el motivo por el que se ha propuesto un tratamiento prenatal, con el fin de prevenir la virilización *in útero* de las niñas afectas de HSC. La idea es tratar al feto vía materna, administrándole a la madre una dosis apropiada de glucocorticoides, que pueda controlar la actividad del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal fetal de tal forma que no

haya una superproducción de andrógenos y, por tanto, eliminar la primera causa de la virilización de los OGE¹⁶⁰.

Por supuesto, el tratamiento prenatal sólo se emprende en una familia con el riesgo de tener un feto afecto por la forma clásica de HSC y si la pareja desea seguir adelante con el embarazo en caso de feto afecto. Las madres son informadas de las condiciones y de las posibilidades de tratamiento, pero también de sus eventuales límites. Los padres deben ser conscientes de que el tratamiento se inicia antes de que pueda establecerse el genotipo del feto. Se requiere el consentimiento de los padres.

El protocolo desarrollado ha sido el siguiente: elección de la dexametasona por su paso activo a través de la barrera transplacentaria y su mejor efecto supresor sobre la ACTH; la dosis aconsejada es de 20 µg/kg de peso materno al iniciar el tratamiento; iniciar el tratamiento antes de las 6-7 semanas de gestación (con el fin de prevenir la clitorimegalia y permitir que el abocamiento de los orificios vaginales y uterinos se separen normalmente), por tanto, antes de que exista cualquier posibilidad diagnóstica prenatal; no interrumpir el tratamiento antes de obtener los resultados del diagnóstico; continuación del tratamiento únicamente si el feto es del sexo femenino y está afecto. Está claro que la instauración del diagnóstico prenatal precoz (PVC) y fiable (biología molecular) ha reducido ampliamente la duración de tratamientos inútiles (fetos masculinos y fetos femeninos no afectados) (Fig. 1.21).

Se ha observado que el tratamiento es eficaz, al menos parcialmente, con la condición de que se inicie precozmente y que el cumplimiento materno sea bueno, puesto de manifiesto por la caída de las tasas maternas de cortisol, DHAS. No se ha informado de ningún efecto teratógeno. Los embarazos se han desarrollado sin incidentes notables y los niños nacieron con pesos y tallas normales. Ciertas madres desarrollaron un sobrepeso. Un escaso número de madres mostró signos serios de intolerancia a los glucocorticoides^{161,162,163}, lo que incita a plantear correctamente una contraindicación en caso de hiperinsulinismo, obesidad o diabetes materna. Según el consenso actual la relación riesgo/beneficio ampliamente positiva está en favor de este tratamiento⁶¹, pero se aconseja una farmacovigilancia y la vigilancia estrecha de estos embarazos por un equipo especializado.

1.2.13. DETECCIÓN NEONATAL

En recién nacidos con déficit en 21-hidroxilasa, las crisis de pérdida salina en las primeras semanas de vida pueden ser fatales. Las niñas recién nacidas con déficit en 21-hidroxilasa pueden estar tan virilizadas como para asignarles un sexo erróneo, con el consecuente trauma posterior al reasignar el sexo opuesto, o con la necesidad de histerectomía y esterilidad posteriores en aquéllas que conservan el sexo masculino asignado¹⁶⁴. El retraso en el diagnóstico puede causar también otras complicaciones, como aceleración de la maduración esquelética con talla corta definitiva, desarrollo precoz de caracteres sexuales secundarios en varones, y mayor virilización en niñas. Estas complicaciones pueden prevenirse o corregirse tempranamente si se detectan por *screening* neonatal y diagnóstico precoz.

El déficit en 21-hidroxilasa es claramente más frecuente que todos los trastornos para los que es obligatorio el *screening* neonatal, con excepción del hipotiroidismo congénito.

Un cierto número de estudios piloto han demostrado la factibilidad y la fiabilidad de esta detección mediante un método simple: extracción de sangre capilar sobre papel secante los días 3-5 de vida y determinación de las tasas de 17-OHP¹⁶⁵. Desde entonces se instaura una detección sistemática en varios países, aun cuando las opiniones sobre la relación coste/beneficio son aún divergentes¹⁴⁴.

Esta detección ha permitido apreciar mejor la incidencia de la enfermedad (Tabla I.IV), salvar un cierto número de niños, en particular de sexo masculino, que habrían muerto en ausencia de un diagnóstico correcto, e instaurar un tratamiento precoz^{106,155}.

Por el contrario, esta detección no revela con seguridad más que las formas clásicas. El diagnóstico de las formas NC sigue siendo clínico-biológico. Finalmente, la clasificación de las formas clínicas se realiza más fielmente sobre los datos de la biología molecular^{70,101}.