

Estudio molecular del gen *CYP21A2* en mujeres con hiperandrogenismo y ovarios poliquísticos





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



HOSPITAL  
GENERAL  
de MÉXICO



Vivir Mejor



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA**

---



**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
E INVESTIGACIÓN**

**Estudio molecular del gen *CYP21A2*  
en mujeres con hiperandrogenismo y ovarios poliquísticos**

Tesis que presenta:

**Dra. Lilia Mónica Robledo Trejo**

Para obtener el título de:

**Especialista en Genética Médica**

---

**Dr. Sergio Alberto Cuevas Covarrubias**

Jefe del Servicio de Genética Médica  
Hospital General de México

---

**D. en C. Gloria E. Queipo García**  
Médico Adscrito al Servicio de Genética Médica  
Hospital General de México

## **AGRADECIMIENTOS**

---

Al servicio de Genética Médica del Hospital General de México

A la Dirección de Investigación del Hospital General de México

A la Facultad de Medicina Universidad Nacional Autónoma de México

Al Proyecto CONACYT SALUD-2009-01-115440

---

A la Dra. Guadalupe Nayely Garibay Nieto  
Investigador en Ciencias Médicas  
Hospital General de México

## **AGRADECIMIENTOS**

---

Gracias a Dios por la oportunidad que tanto pedí y me fue entregada.

A ti Emiliano por brindarme todo el tiempo que te correspondía para dedicárselo a mis estudios.

A mis papás Lilia y Odilón por todo el apoyo, sin su ayuda no hubiera sido posible todo esto.

A Rodrigo y Gonzalo por estar conmigo bajo cualquier circunstancia.

A la Doctora Gloria Queipo por permitirme trabajar con ella.

A la Doctora Nayelli Garibay, aprendí muchas cosas con usted, gracias por su paciencia.

A ti Zacil-ha, has sido muy buena amiga, esta tesis también es tuya.

A mis compañeros residentes, todos aportaron algo a este trabajo.

A todos ustedes mil gracias.

## **ÍNDICE**

---

---

|  |    |
|--|----|
| Resumen.....   | 6  |
| Antecedentes.....  | 8  |
| Glándula Suprarrenal.....                                    | 9  |
| Anatomía.....  | 9  |
| Embriología.....   | 10 |
| Histología.....  | 11 |
| Fisiología.....  | 13 |
| Bases Moleculares.....                                       | 24 |
| Hiperplasia Suprarrenal Congénita.....                       | 26 |
| Generalidades.....   | 26 |
| Deficiencia de 21-hidroxilasa.....                           | 26 |
| Deficiencia de 11 $\beta$ hidroxilasa.....                   | 36 |
| Deficiencia de 3 $\beta$ hidroxisteroide deshidrogenasa..... | 37 |
| Planteamiento del problema.....                              | 38 |
| Objetivos.....   | 39 |
| Objetivo General.....  | 39 |
| Objetivos Específicos.....                                   | 39 |
| Material y métodos.....                                      | 40 |
| Sujetos.....   | 40 |
| Extracción de DNA.....                                       | 41 |

---

---

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| PCR.....                        | 41 |
| Secuenciación.....              | 45 |
| Resultados.....                 | 46 |
| Discusión.....                  | 46 |
| Conclusiones.....               | 53 |
| Abreviaturas.....               | 54 |
| Glosario.....                   | 55 |
| Referencias Bibliográficas..... | 57 |



## **RESUMEN**

---

### **Planteamiento del problema**

La hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) es la patología genética autosómica recesiva más frecuente entre las poblaciones, teniendo una frecuencia de hasta 1 en 53 en población hispana. La hiperplasia suprarrenal congénita no clásica (HSCNC) es sub-diagnosticada tanto en pacientes femeninos como en masculinos con síntomas hiperandrogénicos porque sus alteraciones hormonales son de leves a moderadas y no severas y evidentes como en la forma clásica, además de no estar asociada a ambigüedad genital en neonatos femeninos, ocasionando el diagnóstico erróneo con síndrome de ovario poliquístico (SOP). La comprensión de las bases moleculares de la enfermedad nos permitirá un mejor diagnóstico y tratamiento en estos pacientes.

### **Objetivo**

Realizar estudio molecular a pacientes con datos de hiperandrogenismo, en el servicio de Genética y Endocrinología en el Hospital General de México, para determinar la incidencia de hiperplasia suprarrenal congénita no clásica (HSCNC) en esta población.

### **Metodología**

Se estudiaron 46 pacientes con datos de hiperandrogenismo y con el diagnóstico síndrome de ovario poliquístico, se clasificaron en tres grupos: “Síntomas hiperandrogénicos”, “síndrome de Ovario poliquístico” e “Hiperplasia suprarrenal congénita no clásica” de acuerdo a los parámetros para cada una de estas alteraciones. Posteriormente se les realizó estudio molecular del gen CYP21A2, para determinar la incidencia real de HSCNC y realizar una correlación entre los síntomas y la presencia de la mutación.

---

---

## **Resultados**

Las alteraciones en el gen CYP21A2 en nuestra muestra correspondieron a mutaciones descritas en la literatura en pacientes con variedades clásicas y no clásicas de HSC en 3 de 8 pacientes (37.5%) y a polimorfismos en 5 de ellas (62.5%); solo 2 de los polimorfismos han sido previamente descritos. Cinco de las alteraciones en el gen CYP21A2 se encontraron dentro del grupo de HSC (62.5%) y de estas, 2 resultaron ser mutaciones (40%) y 3 fueron polimorfismos (60%), 1 de los cambios en el gen resultó ser una mutación y se encontró en el grupo de HAI (12.5%) y 2 de estas alteraciones (ambos fueron polimorfismos) (25%) están dentro del grupo de SOP.

## **Discusión**

En todos los casos se estableció el diagnóstico adecuado y por lo tanto el abordaje y el tratamiento indicado para cada uno de los pacientes cumpliendo el propósito del presente estudio.

## **Palabras Clave.**

Hiperplasia suprarrenal congénita no clásica, Síndrome de ovario poliquístico, hiperandrogenismo, estudio molecular, secuenciación.

---

---

La hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) es un grupo de desórdenes de herencia autosómico recesiva que se presenta en niños y adultos, causadas por mutaciones que codifican enzimas involucradas en uno de los varios pasos de la síntesis de esteroides adrenales. Estos desórdenes resultan en ausencia o disminución de la síntesis de cortisol desde su precursor el colesterol, lo que lleva a la acumulación de precursores proximales a la deficiencia enzimática. La pérdida de la inhibición de retroalimentación por el cortisol lleva a un incremento de hormona liberadora de corticotropina (CRH) y consecuentemente de hormona adrenocorticotrópica (ACTH), que resulta en una sobre-estimulación de las glándulas adrenales ocasionando hiperplasia.<sup>1</sup>

Los síntomas de la hiperplasia suprarrenal pueden variar de moderado a severo dependiendo del grado de defecto enzimático.<sup>2</sup> En la forma clásica de HSC existe un defecto enzimático severo debido a mutaciones en los genes que intervienen en la vía esteroidogénica, los fetos femeninos afectados con esta forma experimentan virilización de genitales prenatalmente y se observan al nacimiento con ambigüedad genital (forma virilizante simple). A la deficiencia enzimática “moderada-leve” se le conoce como formas no clásicas, o de inicio tardío manifestándose con desarrollo prematuro de vello púbico, edad ósea avanzada, velocidad de crecimiento lineal acelerado y una talla final disminuida en ambos sexos.<sup>3</sup>

## **ANATOMÍA**

---

Las glándulas suprarrenales son dos y se encuentran situadas sobre el polo superior de los riñones. Se llaman también adrenales. Son aplanadas y tienen forma de media luna. Su tamaño varía con la edad y las condiciones fisiológicas del individuo pero, en general, en el adulto, ambas glándulas juntas pesan unos 8 gr. En un corte del órgano en fresco se observa que está encapsulado y dividido claramente en dos capas concéntricas: una periférica de color amarillo, llamada la capa cortical o corteza de la suprarrenal y otra central, grisácea, la capa medular o médula de la suprarrenal.<sup>4</sup>

Estas dos capas pueden considerarse como dos órganos distintos, solo unidos topográficamente. La glándula está recubierta con una capa conjuntiva y su estroma está representado por una intensa trama de fibras reticulares que sostienen las células.<sup>5</sup>

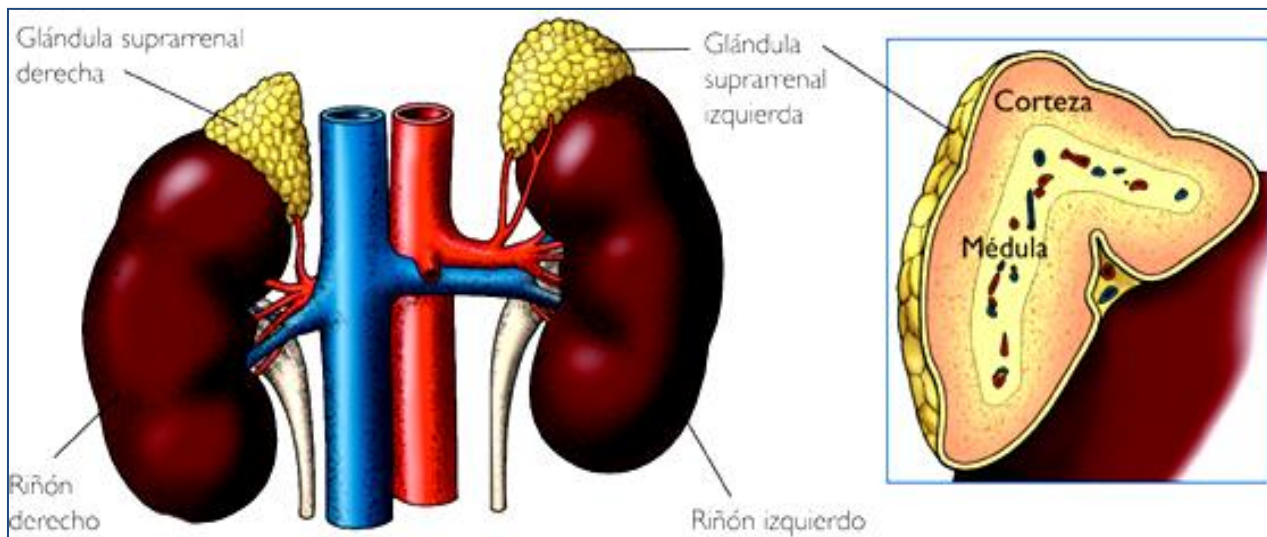


Figura 1. Tomado de Atlas Anatomía Humana, Netter 2 edic.

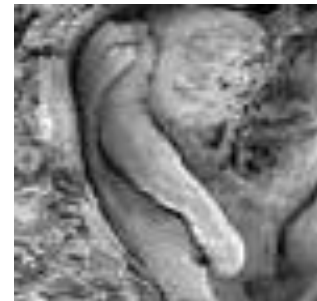
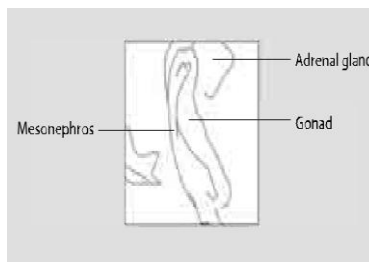
## **EMBRIOLOGÍA**

La glándula suprarrenal tiene un doble origen: la corteza proviene del mesodermo y la médula del ectodermo. La corteza se forma a partir del epitelio celómico situado entre la base del mesenterio y el esbozo gonadal; dicho epitelio organiza cordones celulares que penetran en el mesénquima donde dan lugar a la corteza fetal.<sup>6</sup>

La médula de la suprarrenal proviene de simpatogonias emigradas de la cresta neural con la cadena simpática, las cuales invaden el esbozo cortical para dar lugar a las células cromafines. Después del nacimiento la corteza fetal presenta un proceso de regresión persistiendo la capa externa que se transforma en la capa reticular de la corteza definitiva.



Embrión de 9SD, vista ventral. La imagen marcada con el Número 10 corresponde a la glándula suprarrenal



Glándula suprarrenal

(Embrión de 8 SDG vista ventral)

Figura 2. Tomado de "The Anatomy of de Human Embryo" Stending Gerad

## HISTOLOGÍA

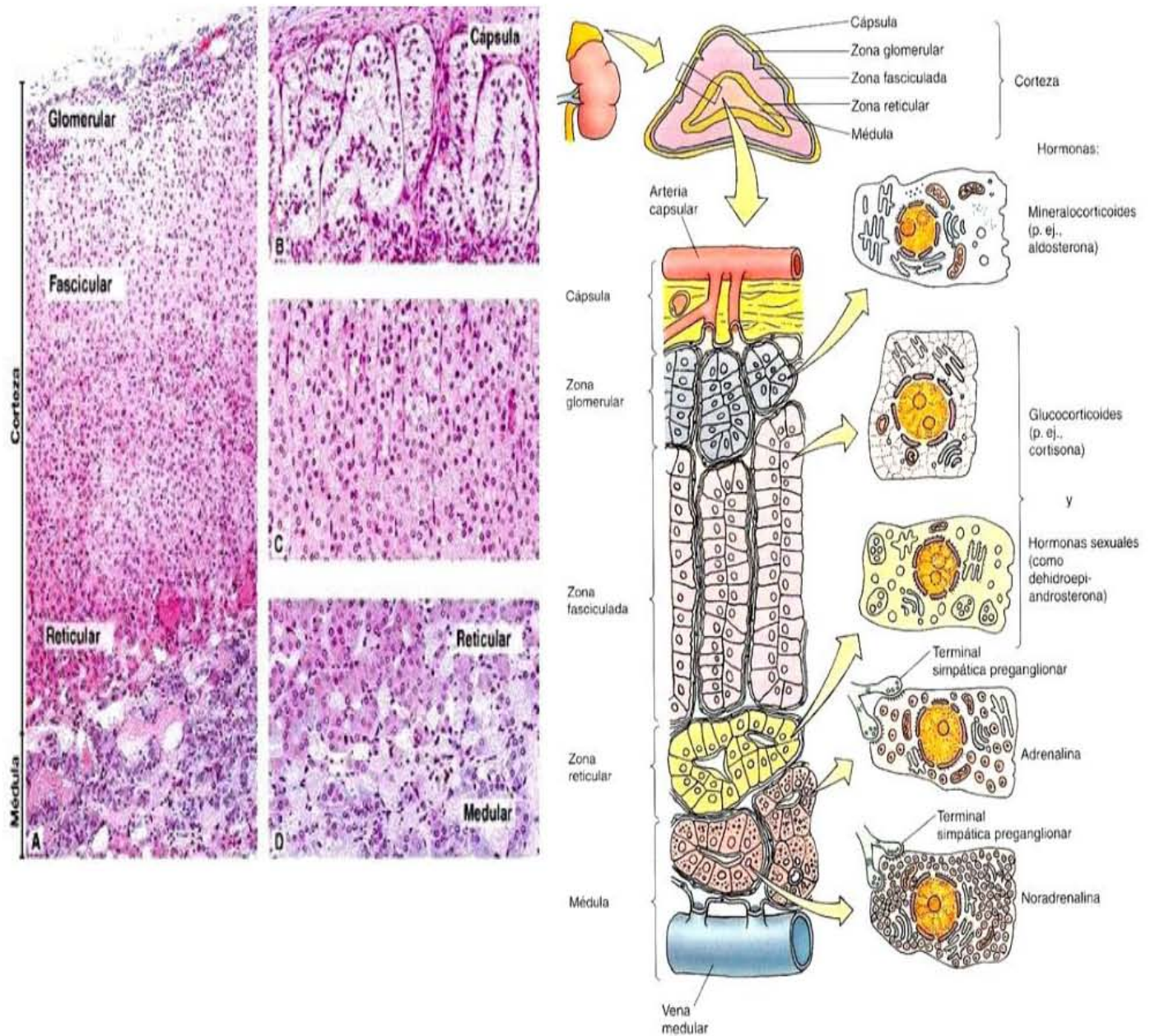
---

Debido a la diferente disposición y aspecto de sus células, la corteza de las glándulas suprarrenales está compuesta por tres zonas conocidas como glomerulosa, fasciculada y reticular.

La zona que se encuentra inmediatamente por debajo de la cápsula conjuntiva se denomina zona glomerulosa, es la más externa, sus células se disponen en grupos globulosos o asciformes envueltos por capilares cuya disposición dió origen al nombre de esta zona.<sup>7</sup> Las células son relativamente pequeñas, cilíndricas de núcleo esférico y citoplasma acidófilo con grumos basófilos e inclusiones lipídicas. La zona siguiente se denomina fascicular porque sus células forman cordones paralelos entre sí y perpendiculares a la superficie del órgano, entre los cuales corren los capilares. Es la más ancha y gruesa, las células son de mayor tamaño, poliédricas y de citoplasma basófilo; en la mitad externa de esta zona las células contienen gran número de inclusiones lipídicas en el citoplasma, que presentan un aspecto vacuolizado, y estas vacuolas están dispuestas en forma de columnas angostas de orientación radial, que en algunos sitios solo tienen una célula de espesor, a estas células se le llaman espongiocitos. En los límites externos e internos de esta zona pueden encontrarse células con pequeñas cantidades de lípidos.<sup>8</sup>

En la zona reticular, la más interna, de espesor similar a la de la glomerulosa, los cordones de células un poco menores están dispuestas en forma de una red anastomótica similar. Algunas de las células en esta zona interna poseen núcleos picnóticos, su citoplasma es acidófilo con pequeñas cantidades de lípidos en su interior, pudiendo presentar gránulos de pigmento pardo. En esta región existen células de contornos irregulares que sugieren están en proceso de degeneración.

Las células epiteliales secretoras de las tres zonas están en íntima cercanía con capilares. Por producir hormonas esteroideas, todas contienen abundante retículo endoplásmico liso. Su aspecto vacuolado es más notable en la zona fasciculada, depende de su abundancia de gotitas de lípido, que contienen ésteres de colesterol, precursores de hormonas esteroideas. Las células de la zona fasciculada contienen cantidades considerables de ácido ascórbico; las células poseen mitocondrias abundantes que difieren de las formas típicas en que sus crestas son tubulares y no en “anaquel”.<sup>6,7</sup>



Corte histológico que muestra las capas de la glándula suprarrenal (Figura 3. Tomado de Histología de Ham 4ª ed.).

## FISIOLOGÍA

---

La glándula suprarrenal está compuesta por 2 capas que se puede considerar dos órganos endócrinos independientes: la médula suprarrenal más interna secreta adrenalina, noradrenalina y dopamina, y la corteza suprarrenal más externa, secreta hormonas esteroideas.

La médula suprarrenal es un ganglio simpático, en el cual las neuronas post-ganglionares perdieron sus axones y se volvieron células secretoras. Las células secretan cuando son estimuladas por las fibras de los nervios preganglionares que inervan a la glándula por medio de los nervios esplénicos.<sup>8</sup>

La corteza suprarrenal secreta glucocorticoides, esteroides con efectos muy extensos en el metabolismo de los carbohidratos y las proteínas; un mineralocorticoide esencial para el mantenimiento de equilibrio del sodio y volumen de líquidos extracelulares y hormonas sexuales que ejercen efectos menores en la función reproductiva.<sup>4,9</sup>

De manera primaria la ACTH de la hipófisis anterior controla la secreción suprarrenocortical, aunque la secreción de mineralocorticoides está sujeta a un control independiente por medio de factores circulantes, de los cuales el más importante es la angiotensina II, un péptido formado en la corriente sanguínea. La formación de angiotensina es, a su vez, dependiente de la secreción renal de renina.

Las hormonas de la corteza suprarrenal son derivados del colesterol. Como el colesterol, los ácidos biliares, la vitamina D y los esteroides ováricos y testiculares, estas contienen un núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno. Los esteroides gonadales y corticosuprarrenales son de tres tipos: esteroides C<sub>21</sub>, los cuales tienen una cadena lateral de dos carbonos en la posición 17; esteroides C<sub>19</sub> que tienen un grupo ceto o hidroxilo en la posición 17 y esteroides C<sub>18</sub> que además de un grupo 17 ceto o hidroxilo, no tienen algún grupo metilo angular unido en la posición 10. La corteza suprarrenal secreta de manera principal esteroides de C<sub>21</sub> y C<sub>19</sub>. La mayor parte de los esteroides C<sub>19</sub> tienen un grupo ceto en la posición 17 y por tanto se llaman 17-cetoesteroides. Los esteroides C<sub>21</sub> que tienen un grupo hidroxilo en la posición 17, además de una cadena lateral, se denominan 17 hidroxicorticosteroides o 17 hidroxicorticoides.



Los esteroides C<sub>19</sub> tienen actividad androgénica. Los esteroides C<sub>21</sub> se clasifican usando la terminología de Selye como mineralocorticoides o glucocorticoides. Todos los esteroides C<sub>21</sub> secretados son activos en ambos sentidos, mineralocorticoide y glucocorticoide: los mineralocorticoides son aquellos cuyo efecto predominante modifica a la excreción de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> y los glucocorticoides son aquellos que afectan de manera principal al metabolismo de la glucosa y de las proteínas. La letra griega Δ indica una doble ligadura y que los grupos que yacen arriba del plano de cada anillo de esteroides se indican por la letra griega β y una línea sólida (-OH), mientras aquellos que se encuentran abajo se indican con una letra α y una línea punteada (---OH).<sup>5</sup>

Así los esteroides C<sub>21</sub> secretados por la glándula suprarrenal tienen una configuración Δ<sup>4</sup>-3-ceto en el anillo A. En la mayor parte de los esteroides suprarrenales naturales, grupos 17-hidroxi están en la configuración α mientras que los grupos 3-, 11- y 21- hidroxi tienen la configuración β. La configuración 18-aldehído en la aldosterona natural está la forma D. La L-aldosterona es fisiológicamente inactiva.

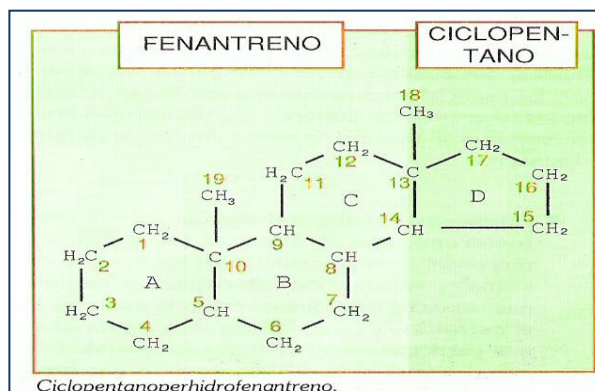


Figura 4. Tomada de Bioquímica de Lehninger

## SECRECIÓN DE ESTEROIDES

---

A partir del tejido suprarrenal se han aislado innumerables esteroides, pero los únicos esteroides que se secretan de manera normal en cantidades fisiológicamente significativas son los mineralocorticoides aldosterona, los glucocorticoides cortisol y corticosterona y los andrógenos dehidroepiandrosterona (DHEA) y androstenediona.<sup>10</sup>

La desoxicorticosterona es un mineralocorticoide que de manera normal se secreta en las mismas cantidades que la aldosterona, pero solo tiene 3% de la actividad mineralocorticoide de la aldosterona.

Su efecto en el metabolismo de los minerales es por lo regular insignificante, pero en enfermedades que aumenta su secreción, sus efectos pueden ser apreciables. Las suprarrenales también puede secretar pequeñas cantidades de estrógenos, aunque la mayor parte de los estrógenos que no se forman en el ovario se producen en la circulación a partir de la androstenediona suprarrenal. Casi toda la dehidroepiandrosterona se secreta conjugada con sulfato, aun cuando la mayor parte, si no es que todos los demás esteroides, se secretan en forma libre, no conjugada.<sup>11</sup>

El índice de secreción para esteroides individuales puede determinarse por la inyección de una dosis muy pequeña de esteroide marcado con isótopos y determinando luego en grado en el cual los esteroides radioactivos que se excretan por orina son diluidos por la hormona secretada sin marcar. Los seres humanos secretan predominantemente cortisol; la proporción de cortisol y corticosterona secretados es de aproximadamente 7:1.<sup>12</sup>

## BIOSÍNTESIS DE ESTEROIDES

Las principales vías por las cuales se sintetizan en el organismo las hormonas corticosuprarrenales de producción natural se resume en el siguiente cuadro:

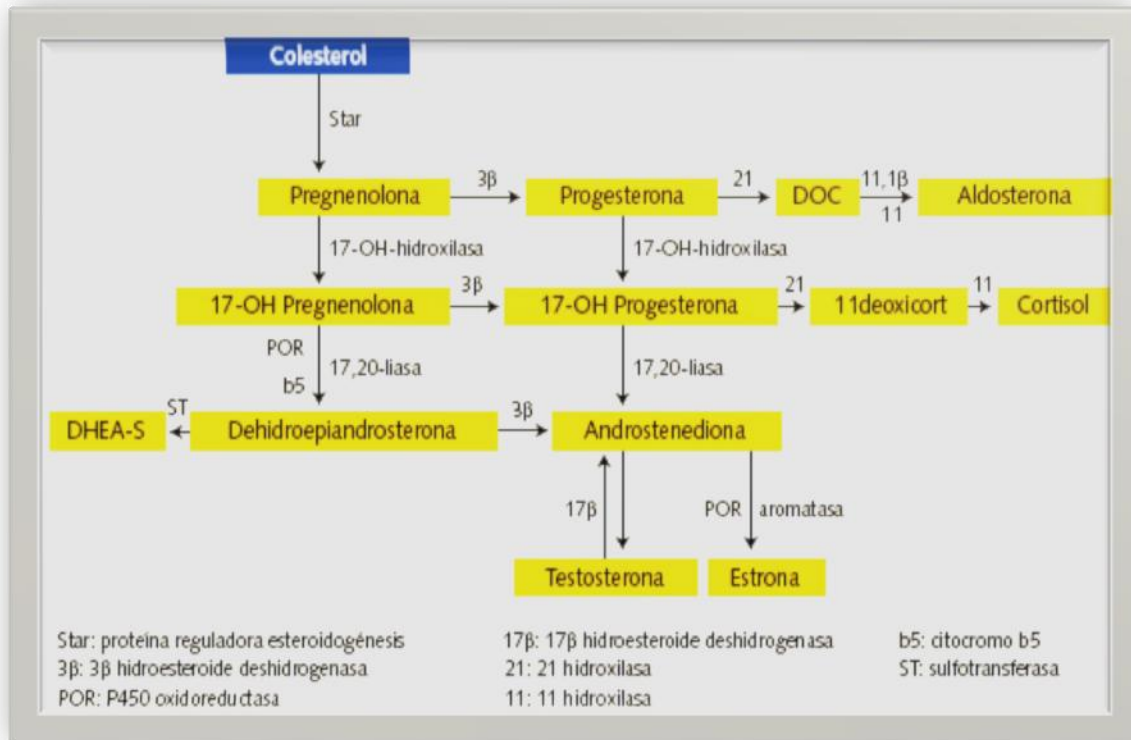


Figura 5. Tomada de Endocrinología Clínica de Tres Guerres

La corteza suprarrenal humana consiste en tres zonas, la zona glomerulosa que es responsable de la producción de aldosterona, la zona fasciculada responsable de la producción de glucocorticoides y la zona reticular que se encarga de la producción de andrógenos. Ya que estas células no almacenan grandes cantidades de hormona, la secreción hormonal esteroidogénica refleja la biosíntesis de sus hormonas.<sup>13</sup>

El precursor de todos los esteroides es el colesterol.<sup>11</sup> Algo de colesterol es sintetizado a partir de acetato, aunque la mayor parte de este se toma de las LDL que están en la circulación.

---

---

Los receptores de LDL son abundantes en especial en las células suprarrenocorticales. El colesterol se esterifica y se almacena en gotas de grasa. La éster-colesterol-hidrolasa cataliza la formación de colesterol libre en las gotas de grasa. El colesterol se transporta a la mitocondria por una proteína transportadora de esterol.<sup>14</sup>

A través de una serie de pasos enzimáticos, el cortisol es sintetizado a partir de colesterol por medio de la enzima colesterol desmolasa (P450<sub>scc</sub>) codificada por CYP11A1 en la mitocondria. Dentro de la mitocondria existe una proteína reguladora esteroideogénica (StAR) la cual media un paso importante dentro de la esteroideogénesis. La enzima 17 $\alpha$ -hidroxilasa/17/20-liasa (P450<sub>c17</sub>) es el regulador cualitativo de la esteroideogénesis, esta enzima codificada por CYP17A1 es capaz de realizar dos actividades. En la zona fasciculada desempeña la 17 $\alpha$ -hidroxilación para generar 17 $\alpha$ -pregnenolona. La actividad 17,20-liasa de P450<sub>c17</sub> convierte, la 17 $\alpha$ -pregnenolona a dehidroepiandrostenediona (DHEA). En la zona fasciculada la enzima 3 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 2 codificada por el gen HSD3B2 convierte la 17 $\alpha$ -pregnenolona a 17 $\alpha$ -progesterona que es subsecuentemente convertida a 11-deoxicortisol por la enzima 21-hidroxilasa (P450<sub>c21</sub>). La enzima 21-hidroxilasa es una proteína citocromo P450 codificada por CYP21A2 y localizada en el retículo endoplásmico. El último paso de la biosíntesis de cortisol es mediado por la 11 $\beta$ -hidroxilasa (P450<sub>c11 $\beta$</sub> ) que convierte el 11-deoxicortisol a cortisol; esta enzima es codificada por CYP11B1.<sup>15</sup>

La biosíntesis de aldosterona es primariamente regulada por las concentraciones de sodio y potasio sérico y el sistema renina-angiotensina en plasma. Para la biosíntesis de aldosterona la pregnenolona es convertida a progesterona por HSD3B2 y subsecuentemente a deoxicorticosterona por P450<sub>c21</sub>.

El paso final en esta vía son mediados por la aldosterona sintetasa (P450<sub>c11AS</sub>) quien es codificada por CYP11B2.<sup>16</sup>

---

DHEA puede ser convertido por HSD3B2 a androstenediona; en la corteza suprarrenal, DHEA puede experimentar una reacción sulfotransferasa para ser convertida sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEAS). DHEA, androstenediona y DHEAs son también llamados andrógenos adrenales. Sin embargo estas hormonas no tienen gran afinidad por el receptor de andrógenos y deben de ser convertidos a andrógenos más potentes por medio de otras enzimas. La adrenarca se refiere al incremento de la secreción de estos “andrógenos adrenales” que generalmente empieza entre los 6 y 8 años de edad. Este proceso no es dependiente de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), hormona luteinizante (LH) y foliculoestimulante (FSH) o gonadal (testosterona y estradiol).<sup>17</sup>

La androstenediona es producida por la zona reticular de la glándula suprarrenal y las células de la teca en el ovario. En el ovario, la androstenediona sirve como un precursor para la biosíntesis de estradiol en las células de la granulosa. Las células de la teca secretan androstenediona en respuesta a una estimulación de LH y las células de la granulosa estrógenos en respuesta a FSH.<sup>18</sup>

### ACCIÓN DE ACTH

La ACTH se une a receptores de gran afinidad ubicados en la membrana plasmática de las células suprarrenocorticales. Esto activa a la adenililciclase por medio de Gs y el aumento resultante en el AMP cíclico intracelular activa a la proteína cinasa A. Esta última hidrolasa, fosforila a la éster colesterol, aumentando su actividad y se incrementa su conversión de éster colesterol en colesterol libre. Esto, a su vez, conduce a un rápido incremento en la formación de pregnenolona o sus derivados. En grandes periodos, la ACTH también aumenta la síntesis de los cinco P450 implicados en la formación de las hormonas suprarrenocorticales.<sup>19</sup>

---

---

## ACCIÓN DE LA ANGIOTENSINA II

La angiotensina II se une a receptores en la zona glomerulosa que actúan por medio de la proteína G para activar la fosfolipasa C. El incremento resultante en la proteincinasa promueve la conversión de colesterol a pregnenolona y facilita la formación de 18-hidroxycorticosterona, lo cual a su vez, facilita la producción de aldosterona. La angiotensina II también incrementa la conversión de colesterol a pregnenolona.

## TRANSPORTE METABOLISMO Y EXCRECIÓN DE HORMONAS SUPRARRENOCORTICALES

El cortisol se une en la circulación a una globulina  $\alpha$  llamada transcortina o globulina fijadora de corticosteroides (CBG): Existe también, en menor grado, unión a la albumina. La unión de corticosterona es similar, pero en menor extensión. La vida media del cortisol en circulación es entonces mayor (cerca de 60 a 90 minutos) que la de la corticosterona (50 minutos). Los esteroides unidos parecen ser fisiológicamente inactivos. Debido a su unión a las proteínas existe una pequeña cantidad de cortisol y corticosterona libres en orina.<sup>20</sup>

La función del cortisol unido es que es un reservorio de la hormona, que mantiene un aporte de cortisol libre disponible en el tejido. A concentraciones normales de cortisol plasmático total (13.5  $\mu\text{g/dL}$  o 375 nmol/L), existe muy poco cortisol libre en plasma aunque los sitios de unión CBG se saturan cuando el cortisol plasmático total rebasa los 20  $\mu\text{g/dL}$ . A mayores concentraciones plasmáticas, existe cierto incremento en la unión a albúmina, pero el principal aumento es la fracción no unida.<sup>12</sup>

La CBG se sintetiza en el hígado y los estrógenos aumentan su producción. Las concentraciones de CBG se elevan durante el embarazo y se deprimen con cirrosis, nefrosis y mieloma múltiple. Cuando aumenta la concentración de CBG, más cortisol se une e inicialmente existe una caída de cortisol libre, cuando disminuye la concentración de CBG ocurre lo contrario.

## **METABOLISMO Y EXCRECIÓN DE GLUCOCORTICOIDES**

---

El cortisol se metaboliza en hígado, que es el sitio principal del catabolismo de glucocorticoides. La mayor parte del cortisol se reduce a dihidrocortisol y de este a tetrahidrocortisol, el cual se conjuga con ácido glucorónico. El sistema glucoroniltransferasa que produce esta conversión también cataliza la conversión de los glucorónidos de bilirrubina y varias hormonas y fármacos. El hígado y otros tejidos contienen la enzima 11 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa. Existen dos tipos de enzima: el tipo 1 cataliza tanto la conversión de cortisol en cortisona como la reacción inversa, pero el tipo 2 cataliza casi exclusivamente la conversión de cortisol en cortisona en una sola dirección. La cortisona es un glucocorticoide, las suprarrenales no la secretan en abundantes cantidades.<sup>20</sup>

Una pequeña cantidad de cortisona formada en hígado entra en la circulación, esto se debe a que se reduce y conjuga con rapidez a la forma de glucorónido tetrahidrocortisona. Los derivados tetrahidrogucorónidos (“conjugados”) del cortisol y corticosterona son ampliamente solubles. Entran a la circulación, donde no se pueden unir a proteínas, se excretan de manera rápida por orina en parte por secreción tubular.

Cerca del 10% del cortisol secretado se convierte en el hígado en derivados de 17 cetoesteroides de cortisol y cortisona. La mayor parte de los cetoesteroides se conjugan con sulfatos y entonces se excretan por orina. Además se forman otros metabolitos, que incluyen derivados 20 hidroxilados. Existe una circulación entero hepática de glucocorticoides y casi 15% del cortisol secretado se excreta por heces. El metabolismo de la corticosterona es similar al de cortisol excepto porque forma derivados 17 cetoesteroides.<sup>16</sup>

El índice de activación hepática de glucocorticoides se deprime con enfermedades hepáticas, durante cirugías y situaciones de estrés; en los seres humanos estresados, el cortisol libre plasmático aumenta más que en el caso de una estimulación máxima de ACTH en ausencia de estrés.<sup>21</sup>

---

---

## ALDOSTERONA

La aldosterona se une sólo en una pequeña proporción a proteínas, y su vida media es breve (20 minutos). La cantidad que se secreta es pequeña y la concentración plasmática total de aldosterona en seres humanos es normalmente de 0.006 mg/dL (0.17 nmol/L). Gran parte de la aldosterona se convierte en el hígado en el derivado tetrahidroglucorónido, pero una parte se convierte en el hígado y los riñones en 18 glucorónido. Este glucorónido se convierte en aldosterona libre por hidrólisis. Menos del 1% de la aldosterona secretada aparece en orina en forma libre. Otro 5% se presenta en forma de conjugado ácido lábil y más de 40% en la forma tetrahidroglucorónido.<sup>22</sup>

## 17 CETOESTEROIDES

El principal andrógeno suprarrenal es el 17 cetoesteroide dehidroepiandrostenediona. El derivado 11 hidroxilado de androstenediona y los 17 cetoesteroides formados del cortisol y la cortisona. La testosterona también se convierte en cetoesteroide. Puesto que la excreción diaria normal en adultos de 17 cetoesteroides es de 15 mg en varones y 10 mg en mujeres, cerca de dos tercios de los cetoesteroides urinarios en varones se secretan por la glándula suprarrenal o se forman del cortisol en hígado y la otra tercera parte es de origen testicular.<sup>11,23</sup>

## ANDRÓGENOS

Los andrógenos son las hormonas que ejercen los efectos masculinizantes y que promueven el anabolismo proteínico y el crecimiento. La testosterona de los testículos es el andrógeno más activo y los andrógenos suprarrenales tienen menos de 20% de su actividad. La ACTH controla la secreción de los andrógenos suprarrenales y es posible que por la hormona estimuladora de los andrógenos suprarrenales hipofisiaria. La concentración plasmática de dehidroepiandrosterona en varones y en mujeres adultos es alrededor de 300 mg/dL y de esta solo el 1% está conjugada en sulfato.<sup>18</sup>



---

---

Después de la menopausia la concentración plasmática en mujeres se reduce a cerca de 90 mg/dL. En niños prepúberes las concentraciones elevadas de andrógenos puede causar desarrollo precoz de caracteres sexuales secundarios sin crecimiento testicular (seudopubertad precoz). En mujeres origina pseudohermafroditismo.

### ESTRÓGENOS

La androstenediona andrógena suprarrenal se convierte en testosterona y en estrógenos (aromatizados) en circulación. Es una fuente importante de estrógenos en varones y mujeres postmenopáusicas.

### EFFECTOS FISIOLÓGICOS DE LOS GLUCOCORTICOIDES

La carencia de glucocorticoides ocasiona un metabolismo del agua anormal, carbohidratos, proteínas y grasa. La ausencia de mineralocorticoides por su parte provoca la pérdida de  $\text{Na}^+$  con insuficiencia circulatoria, hipotensión y choque.<sup>5</sup>

### EFFECTOS EN EL METABOLISMO INTERMEDIO

Los efectos más representativos sobre el metabolismo incluyen incremento del catabolismo de las proteínas y aumento de la glucogénesis y gluconeogénesis hepática. Es mayor la actividad de la glucosa-6-fosfatasa y la concentración de la glucosa plasmática elevada. Los glucocorticoides ejercen una acción anti insulínica en el tejido periférico y agravan la diabetes.<sup>24</sup>

Por otra parte deben de existir pequeñas cantidades de glucocorticoides para que ocurran varias reacciones metabólicas (acción permisiva), los efectos permisivos incluyen requerimiento de los

---

glucocorticoides para que el glucagon y las catecolaminas ejerzan sus efectos calorigénicos, con el fin de que las catecolaminas ejerzan sus efectos lipolíticos y produzcan una respuesta presora y broncodilatación, e inhibe la acción de ACTH. Además los glucocorticoides disminuyen la cantidad de eosinófilos circulantes al aumentar el secuestro en bazo y pulmones. Así mismo disminuye el número de basófilos e incrementan la cantidad de neutrófilos plaquetas y eritrocitos.<sup>15</sup>

Los glucocorticoides disminuyen el número de linfocitos circulante y el tamaño de los ganglios linfáticos y timo por la inhibición de la actividad mitótica linfocítica; inhiben IL2 e IL1. Si se aplican a grandes dosis inhiben el crecimiento, disminuyen la secreción de hormona de crecimiento y TSH y en periodo fetal ayudan a la maduración pulmonar por su efecto sobre el factor tensoactivo.

#### EFEECTO DE LOS MINERALOCORTICOIDES

La aldosterona y otros esteroides con actividad mineralocorticoide incrementan la resorción de  $\text{Na}^+$  a partir de orina, sudor, saliva y jugos gástricos.

## BASES MOLECULARES

CYP21 es un dinucleótido de adenina- nicotinamida microsomal fosfato-dependiente de la enzima citocromo P450 que facilita la 21-hidroxilación de 17-hidroxiprogesterona y progesterona (P) a 11-deoxicortisol y 11-deoxicorticosterona (DOC), respectivamente. CYP21 esta conformado por 494 aminoácidos y tiene una masa molecular de 52kDa.<sup>25</sup>

El gen que codifica CYP21 se denomina CYP21A2 y está localizado en la región III del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) en 6p21.3. Existe un pseudogen (CYP21A1-P) localizado a 30 kb de distancia. Estos genes están organizados en repetidos en tándem con los genes que codifican al componente de complemento sérico cuatro C4B y C4A. CYP21A2 y CYP21A1-P consisten de 10 exones cada uno con una homología de 98% y en su región intrónica existe homología del 96%. CYP21A1-P contiene muchas mutaciones inactivas.<sup>26</sup>

La mayoría de las mutaciones de 21-hidroxilasa se da por una recombinación anómala entre el gen y el pseudogen ocasionando “crossing-over” anómalos durante la meiosis y como consecuencia la delección del gen CYP21A2 y conversiones génicas que ocasionan la transferencia de de las mutaciones de CYP21A1-P al gen CYP21A2.<sup>27</sup>

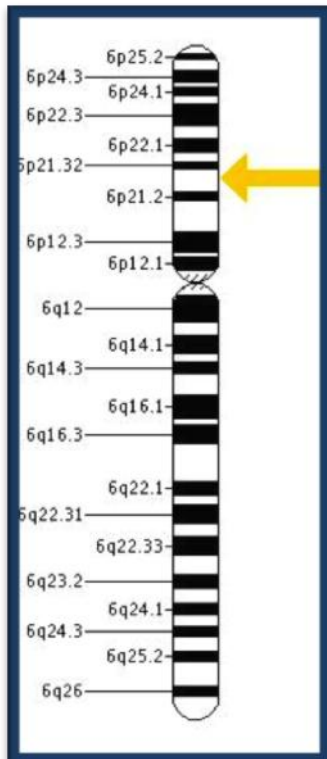


Figura 6. Localización cromosómica de CYP21A2

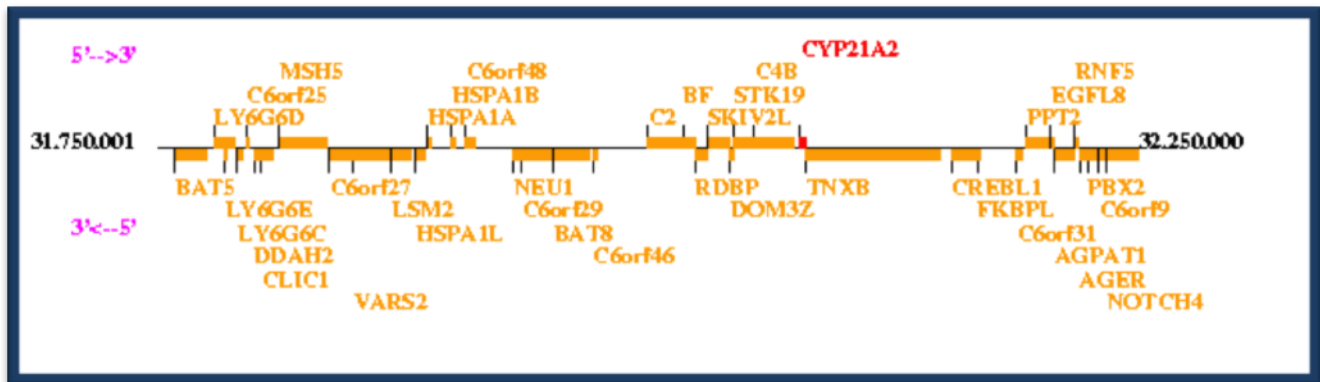


Figura 7. Mapa Físico del gen CYP21A2

El 95% de las mutaciones en el gen CYP21A2, se dan por una recombinación anómala entre el gen y el pseudogen, mientras que el 5% son mutaciones de novo<sup>50</sup>.

De las mutaciones que se dan por “*crossng over*” anómalo, la mayoría son mutaciones puntuales (70-75% de los casos) mientras que los re-arreglos (inversiones y deleciones génicas) ocurren en cerca de 25-30%.<sup>28</sup>

Existe correlación genotipo-fenotipo en donde el alelo que produce la mayoría de la cantidad enzimática determina el fenotipo. Además se ha encontrado que las mutaciones sin sentido han sido encontradas en casos severos de HSC en su forma perdedora de sal. Sin embargo algunas mutaciones pueden presentar fenotipos variables; por ejemplo la mutación del sitio del “*splicing*” en el intrón 2 IVS2-13 A/C>G (IN2)<sup>3</sup> y la mutación puntual p.I172N.<sup>29</sup>

| Country   | p.P30L        | In2             | Del 8 bp E3    | p.I172N         | CLEx6           | p.V281L        | p.Q318X       | p.R356W       | p.P453S       | p.R483P fsX58 | DEL/CONV        | N(alleles) |
|-----------|---------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-----------------|------------|
| Argentina | 0-7           | 20-6            | 0-8            | 8-2             | 2-0             | 26-2           | 6-7           | 4-2           | 1-4           | 1-5           | 11-2            | 866        |
| USA       | 2-5 (0-01220) | 30-4 (0-00020)  | 2-8 (0-00970)  | 9-5 (0-45057)   | ND              | 9-3 (<0-00001) | 4-0 (0-07037) | 3-8 (0-87786) | ND            | ND            | 27-6 (<0-00001) | 398        |
| Sweden    | 1-6 (0-20190) | 27-7 (0-03874)  | 1-2 (0-52051)  | 20-8 (<0-00001) | 0-5 (0-22583)   | 5-4 (<0-00001) | 0-5 (0-00016) | 3-8 (1-00000) | 0-5 (0-48440) | 0-5 (0-48488) | 29-8 (<0-00001) | 186        |
| Germany   | 2-6 (0-01386) | 30-3 (0-00071)  | 1-6 (0-31926)  | 19-7 (<0-00001) | 1-0 (0-31273)   | 2-9 (<0-00001) | 4-8 (0-27449) | 4-5 (0-74574) | 0-3 (0-20316) | ND            | 27-4 (<0-00001) | 310        |
| Brazil    | 2-2 (0-05805) | 20-6 (1-00000)  | 1-3 (0-44310)  | 14-0 (0-01040)  | 0-9 (0-39433)   | 18-0 (0-00948) | 5-7 (0-65292) | 7-0 (0-08009) | 1-3 (1-00000) | ND            | 11-0 (1-00000)  | 228        |
| Mexico    | 8-5 (0-00001) | 47-9 (<0-00001) | 2-1 (0-21761)  | 11-7 (0-24444)  | 0-0 (0-39824)   | 8-5 (0-00007)  | 4-2 (0-50668) | 7-4 (0-18123) | 2-1 (0-63922) | ND            | 1-0 (0-00050)   | 94         |
| Spain     | 2-6 (0-13097) | 22-4 (0-76762)  | 3-9 (0-04007)  | 1-3 (0-02357)   | 0-0 (0-38772)   | 15-8 (0-05343) | 3-9 (0-46925) | 3-9 (1-00000) | ND            | ND            | 19-7 (0-03978)  | 76         |
| Italy     | 2-7 (0-04323) | 19-9 (0-91195)  | 0-0 (0-60209)  | 6-2 (0-50716)   | 0-0 (0-15381)   | 11-0 (0-00004) | 8-2 (0-48230) | 0-0 (0-00617) | ND            | ND            | ND              | 146        |
| France    | ND            | 20-3 (1-00000)  | 7-1 (<0-00001) | 3-8 (0-04306)   | 11-0 (<0-00001) | 14-8 (0-00085) | ND            | ND            | ND            | ND            | 25-3 (<0-00001) | 182        |

Figura 8. Ref.49. Frecuencia (%) de mutaciones en diferentes poblaciones de pacientes con HSCNC

## DEFICIENCIA DE 21-HIDROXILASA

La deficiencia de 21-hidroxilasa está asociada con mutaciones en el gen CYP21A2, el cual se encuentra en 6p21 muy próximo al pseudogen CYP21P también conocido como CYP21A1.<sup>28</sup> La tasa de mutaciones nuevas es muy baja, la mayoría de las mutaciones causantes de la enfermedad se debe a conversión génica entre el gen y el pseudogen.<sup>30</sup> La mayoría de los afectados son heterocigotos compuestos, en general el fenotipo se relaciona con el genotipo. El fenotipo generalmente refleja la actividad enzimática residual, en la actualidad existen aproximadamente 100 mutaciones reportadas. La forma de presentación clínica variará dependiendo del grado de déficit enzimático.<sup>31</sup>

La podemos dividir en dos grandes tipos:

- 1) Forma clásica {
  - Perdedora de sal
  - Virilizante simple
- 2) Forma no clásica

## MANIFESTACIONES CLÍNICAS

---

### FORMA CLÁSICA PERDEDORA DE SAL

El 75% de los pacientes se encuentra dentro de esta categoría.<sup>13</sup> En este caso la mutación de la 21-hidroxilasa produce un grado máximo de inactividad enzimática que conlleva a un déficit importante de cortisol y aldosterona. La ausencia de aldosterona producirá una excreción excesiva de sodio por la orina, así como disminución en la eliminación de potasio por orina, produciendo hiponatremia e hiperkalemia. La eliminación de sodio arrastra agua y bicarbonato ocasionando hipovolemia, hipotensión y acidosis metabólica. Por otro lado la disminución de cortisol producirá hipotensión vascular, descenso del inotropismo cardíaco e hipoglucemia. Además el cortisol tiene cierta actividad mineralocorticoide, por lo que su ausencia contribuirá a la hiponatremia, deshidratación e hipotensión, una mala respuesta vascular de catecolaminas, disminución de la tasa de filtración glomerular ya un aumento en la secreción de hormona antidiurética. Estos síntomas se presentan entre el día 5 y el 15, produciendo vómitos, pérdida del apetito, diarrea, hipotensión que puede llegar a choque hipovolémico, y las siguientes alteraciones bioquímicas: hipoglucemia, hiponatremia, hiperkalemia, hiperreninemia y acidosis metabólica.<sup>32</sup>

Por otro lado la elevación de los andrógenos por arriba del bloqueo enzimático, desde la semana 7 de gestación produce en el sexo femenino un trastorno en el desarrollo genital: aumento del tamaño del clítoris, fusión parcial o completa de los labios mayores, vagina en apertura común con la uretra (seno urogenital)<sup>18</sup> El útero, ovarios y trompas uterinas tendrán un desarrollo normal. Contrariamente a lo que ocurre en las niñas, el exceso de andrógenos en los niños puede producir hiperpigmentación escrotal, aumento leve del pene o incluso puede pasar desapercibido. Por tanto la ausencia de síntomas claros en un recién nacido 46,XY complica el diagnóstico, con el consiguiente riesgo de la aparición de un síndrome pierde sal que puede poner en peligro la vida del neonato afectado. Para evitar esta circunstancia, disponemos del tamizaje metabólico.<sup>3</sup>

## FORMA CLÁSICA VIRILIZANTE SIMPLE

---

---

Se da en el 25% de los casos. La mutación de la 21- $\alpha$ -hidroxilasa permite producir la cantidad de cortisol y aldosterona suficiente como para no desarrollar un síndrome pierde sal. Por tanto, el diagnóstico clínico depende del exceso de andrógenos por encima del bloqueo enzimático.<sup>33</sup>

Así, las niñas afectas presentan trastorno de la diferenciación sexual en el momento del nacimiento, mientras que los niños pueden presentar signos de virilización (hiperpigmentación, pene elongado) o pasar desapercibidos inicialmente y presentar manifestaciones clínicas con posterioridad: aparición precoz de vello púbico, vello axilar, pene alargado, así como aceleración de la velocidad de crecimiento.<sup>34</sup>

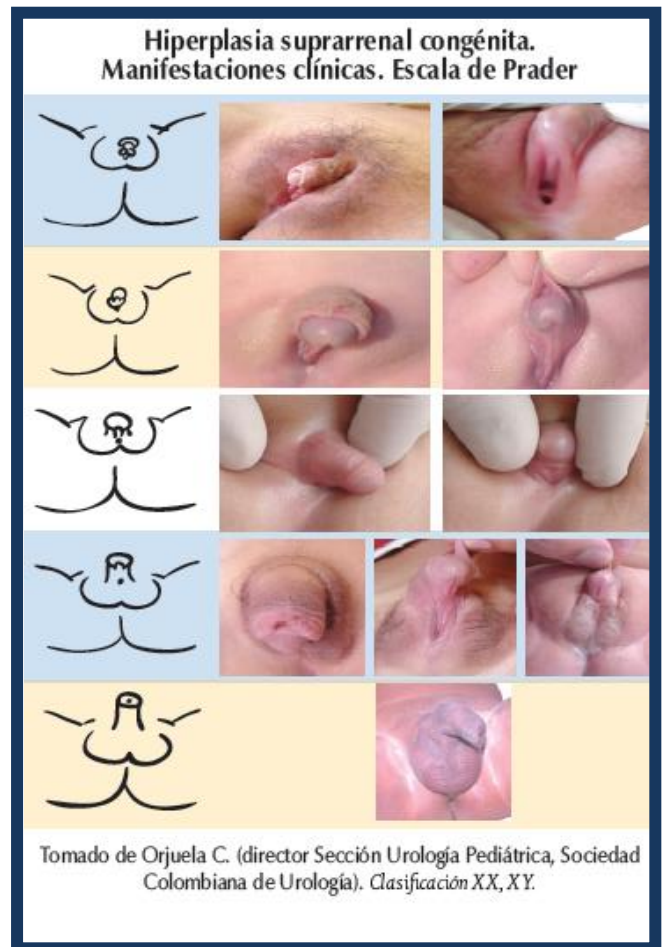
### **Genitales ambiguos:**

Se debe a la exposición a andrógenos desde la sexta semana de gestación, en niñas con la forma clásica de la enfermedad. Las características típicas son: clitoromegalia, fusión parcial y rugosidades de labios mayores y seno urogenital común en vez de una vagina y una uretra separada. Los datos de virilización en un neonato 46,XX puede variar desde la apariencia casi masculina de los genitales externos con un falo alargado o una mínima clitoromegalia; estas pacientes presentan un útero sin alteraciones, los ovarios pueden encontrarse pequeños, a pesar de la excesiva cantidad de andrógenos prenatales la posición ovárica es normal y las estructuras wolffianas internas sufren regresión.<sup>35</sup> El desarrollo de los genitales externos es normal en los pacientes masculinos en algunas ocasiones presentan hiperpigmentación. Los genitales externos de los pacientes femeninos afectados por la forma no clásica son por lo general normales.<sup>36</sup>

Además de las características en genitales los pacientes llegan al desarrollar, hipotensión arterial, falla en la alimentación, hiponatremia e hiperkalemia. El punto de corte para los programas de tamizaje no identifica niños con la forma no clásica de la deficiencia de 21-hidroxilasa.<sup>27</sup>



Figura 9. Tomada de Ref.26.



### FORMA NO CLÁSICA

En esta forma de presentación, existe el suficiente grado de actividad enzimática (pérdida de función entre 50 y 80%) como para producir adecuadamente cortisol y aldosterona y para que la producción de andrógenos no sea excesiva.

Presenta una incidencia de 1 cada 500 recién nacidos vivos, siendo más frecuente en grupos étnicos judíos del este europeo. Habitualmente, los recién nacidos son asintomáticos, apareciendo los síntomas con posterioridad.<sup>1</sup>



---

---

Los pacientes se presentan con signos y síntomas relacionados con el exceso de andrógenos así como síntomas de deficiencia de glucocorticoides. Las niñas se pueden presentar con pubarca y adrenarca prematuras con concentraciones de 17-OHP, androstenediona y testosterona elevadas, talla alta, velocidad de crecimiento linear acelerado y maduración ósea acelerada.<sup>37</sup>

La maduración ósea acelerada promueve la fusión epifisial prematura ocasionando una talla baja final.

En los niños se observa crecimiento del falo con testículos prepuberales. Durante la adolescencia y en la etapa adulta la mayoría de los pacientes de sexo femenino acuden a consulta por los síntomas originados por el exceso de andrógenos, los cuales incluyen hirsutismo, acné, alopecia, anovulación, disfunción menstrual e infertilidad. Los hombres afectados son generalmente asintomáticos aunque pueden llegar a presentar ginecomastia o incidentaloma adrenocortical.

### **Pubarca prematura:**

Está definida como la presencia de vello en la región púbica y axilar y de actividad apócrina antes de los 8 años de edad en las niñas y antes de los 9 años en los niños. Además a la exploración física encontramos alteraciones genitales, acné, talla alta y maduración ósea avanzada. En genitales encontramos clítoris alargado en niñas y crecimiento del falo con testículos prepuberales en niños.<sup>37</sup>

Estos niños secretan suficiente cantidad de aldosterona de tal manera que no hay datos de hipovolemia o alteraciones electrolíticas. La revisión de las curvas de crecimiento muestra velocidad de crecimiento linear acelerado.

---

---

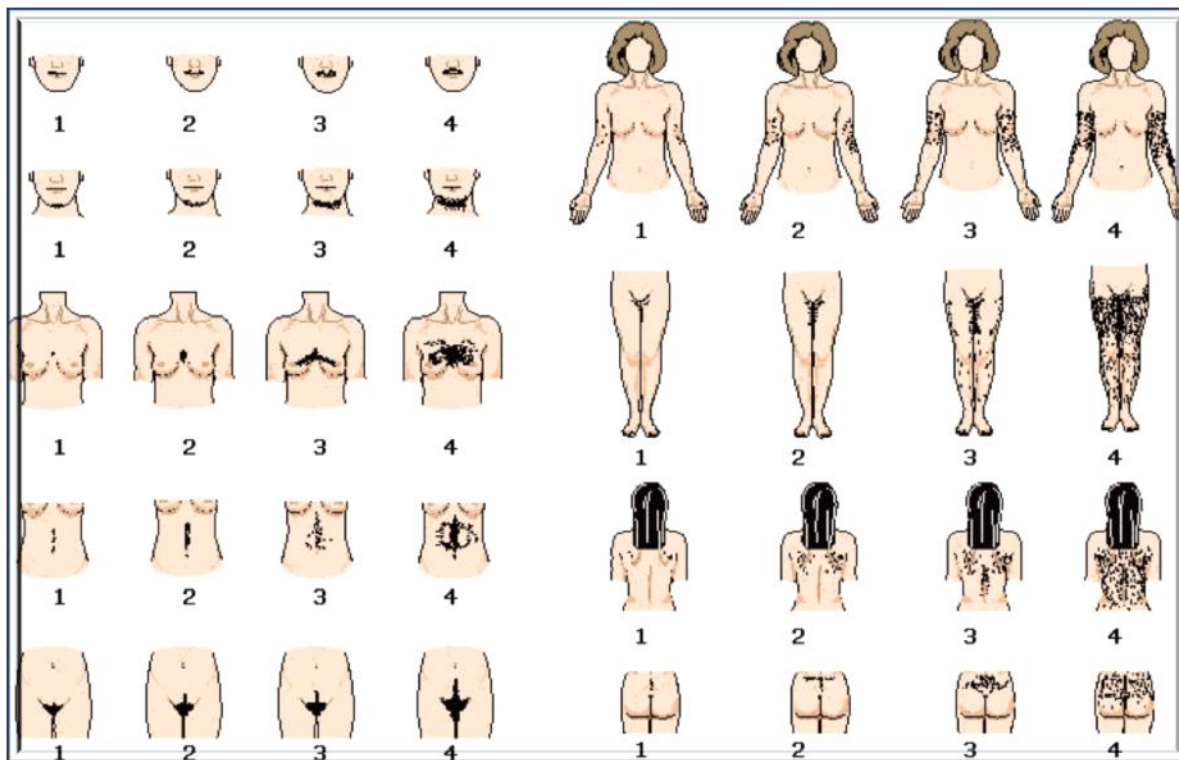
### **Hirsutismo:**

El hirsutismo representa la relativa sensibilidad del folículo piloso a la exposición a andrógenos y es una característica común de hiperandrogenismo. El hirsutismo se puede diferenciar de la hipertrichosis (excesivo crecimiento de vello generalizado independiente de andrógenos relacionado a factores familiares o a alteraciones metabólicas o medicación). El hirsutismo es definido como el crecimiento excesivo de vello terminal grueso en áreas dependientes de andrógenos en caso de los pacientes femeninos. Estas áreas incluyen zona de bigote, barba, cuello parte superior e inferior de abdomen y espalda, cara interna de ambos muslos, el vello es más largo, oscuro y enrollado y es considerado vello terminal. La testosterona y la DHT actúan a través de receptores andrógenos en la papila dérmica para incrementar el tamaño del folículo piloso. La piel tiene la capacidad de sintetizar esteroides sexuales de novo a partir de colesterol así como interconvertir esteroides específicos.<sup>38</sup>

La escala modificada de Ferriman-Gallwey provee un método semi-subjetivo para valorar la magnitud del crecimiento del vello en nueve áreas dependientes de andrógenos (los ya descritos). Se sugiere hirsutismo con valores de 6 a 8 aunque puede variar según el grupo étnico.<sup>39</sup>



Figura 10. Paciente femenino con hirsutismo



< 8/10 : Constitucional  
 8/10 – 11/15 : Hirsutismo leve  
 15/19: Hirsutismo moderado  
 >15 o >19 : Hirsutismo Grave

Figura 11. Tomada Endocrinología Médica. 2º ed,

**Ciclos menstruales irregulares y función reproductiva:**

El hiperandrogenismo está asociado con anovulación crónica, amenorrea e infertilidad. La amenorrea puede ser primaria o secundaria. La fertilidad se correlaciona con la severidad del desorden, sin embargo es más común entre mujeres con la forma clásica “perdedora de sal” y menos común en las mujeres con la forma tardía de la enfermedad. Por ultrasonido los ovarios se asemejan morfológicamente a los ovarios poliquísticos, estos últimos se presentan hasta en un 40% de las paciente con HSNC.

---

---

Un factor que contribuye a la anovulación crónica en mujeres con hiperandrogenismo, es que el exceso de andrógenos disminuye la sensibilidad hipotalámica a progesterona resultando en persistencia de pulsos rápidos de GnRH que favorece la hipersecreción de LH que a su vez contribuye a un círculo vicioso en la cual la secreción androgénica ovárica intensifica las consecuencias de la producción androgénica suprarrenal. La falla en la implantación debida a concentraciones elevadas de progesterona intensificada por un intercurso sexual poco satisfactorio debida a un introito vaginal pequeño contribuye a la falla reproductiva. Otra causa potencial de falla reproductiva es que la excesiva exposición a andrógenos en el útero induce a una programación prenatal del hipotálamo que predispone a hipersecreción de LH.

Algunas pacientes con HSCNC son relativamente fértiles, sin embargo las portadoras de HSCNC tiene gran riesgo de sub-fertilidad en parte debido a disfunción ovulatoria prevaleciente.<sup>2</sup>

Los niveles persistentemente elevados de progesterona durante la fase folicular en mujeres con HSCNC pueden intervenir con la calidad del moco cervical, impidiendo la penetración del espermatozoides; además los niveles elevados de 17-OHP y de P4 durante la fase preovulatoria (folicular) del ciclo menstrual pueden resultar en maduración endometrial inadecuada que impide la implantación.

Los abortos espontáneos son comunes entre pacientes con HSCNC.<sup>40</sup>

Dado que la deficiencia de 21-hidroxilasa es un padecimiento autosómico recesivo, el riesgo de recurrencia es de 25% en los embarazos de los padres del probando. Para mujeres con HSCNC, el riesgo de tener un hijo con las formas clásicas virilizante simple o perdedora de sal depende, en parte, de la probabilidad de que el padre sea portador y el genotipo de la madre.

### **Acné:**

Puede ser la manifestación temprana de HSC, la presencia de acné quístico refractario a antibióticos orales y ácido retinoico se ha atribuido a HSCNC. Adicionalmente la presencia de calvicie con patrón masculino en mujeres jóvenes con síntoma único se ha asociado a la patología.

---

---

### **Densidad mineral ósea:**

Los glucocorticoides influyen el metabolismo óseo por supresión de la actividad de los osteoblastos promoviendo el incremento de la resorción ósea por los osteoclastos e interfiriendo con la absorción de calcio desde el tracto gastrointestinal. Es importante el tratamiento con glucocorticoides para conservar la densidad ósea. En teoría un tratamiento inadecuado podría llevar a un exceso de andrógenos que llevaría a un aumento de densidad ósea.

### **Tumores gonadales residuales:**

Durante la gestación temprana, células destinadas a ser las productoras de esteroides en la corteza suprarrenal y las gónadas se diferencian de regiones vecinas del epitelio celómico. Subsecuentemente algunas células precursoras adrenales migran, descendiendo hacia escroto y testículos reteniendo las respuestas a ACTH, y pueden desarrollar dentro de testículos, tumores adrenales residuales. Estos tumores se han descrito en niños y hombres con HSCC.<sup>41</sup>

### **Tumores adrenales:**

Son raros entre los individuos con HSCNC, los más comunes son incidentalomas y mielolipomas adrenales.

### **Síndrome de genes contiguos.**

Los genes CYP21A2 y CYP21A1P así como el complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) se encuentra en 6p21. Otro gen localizado en esta región codifica para tenascina-X (TNXB). La tenascina -X es una proteína larga de la matrix extracelular la cual se expresa en la dermis, tejido conectivo, óseo y cardíaco. La pérdida de la función de de TNXB secundario a una mutación está asociada a

---

---

hiperlaxitud y a síndrome de Ehlers-Danlos. Los individuos con deleciones de CYP21A2 tienen haploinsuficiencia de TNXB y puede manifestarse como hiperlaxitud de articulaciones, subluxaciones y dolor musculo esquelético crónico.

### **Consecuencias metabólicas**

En paciente con HSCNC se incluyen: obesidad, hipertensión y resistencia a la insulina.<sup>42</sup> El exceso de andrógenos además puede aumentar el riesgo para aumento en lípidos y factores iatrogénicos. Además puede existir disfunción plaquetaria secundaria a la resistencia de insulina.<sup>24</sup>

### **Médula adrenal:**

La capa interna de la glándula suprarrenal es la médula la cual secreta epinefrina. En conjunto con la promoción de la maduración de las células cromatofobas durante la gestación, los glucocorticoides estimulan la producción de feniletanolamina-N-metiltransferasa (PNMT), esta enzima convierte la norepinefrina en epinefrina. La epinefrina en plasma y la metanefrina se encontraron en bajas concentraciones en pacientes con HSC y la magnitud de la deficiencia hormonal se correlaciona con la severidad de la deficiencia adrenocortical. Las concentraciones de metanefrina libre se ha correlacionado con el fenotipo molecular, bajas concentraciones de metanefrina predicen una mutación más severa. El examen histológico de las glándulas suprarrenales muestra hiperplasia cortical y zonas mal definidas. La deficiencia de cortisol en pacientes con HSC resultan en un desarrollo anormal de la médula suprarrenal y deficiencia de epinefrina; este desarrollo y función deteriorada probablemente contribuye al desarrollo de hipoglucemia durante una crisis adrenal aguda.

## **DIAGNÓSTICO**

---

El diagnóstico de hiperplasia suprarrenal se realiza de inicio por los hallazgos a la exploración física.

Los estudios de laboratorio que se deben de incluir dentro del protocolo de estudio en estos pacientes son: cariotipo, ultrasonido pélvico, y la determinación de 17-OHP, electrolitos séricos y actividad de renina en plasma para descartar la deficiencia mineralocorticoide.

En la deficiencia de 21-hidroxilasa clásica el rango de concentración de 17-OHP son bastante elevadas con valores superiores a 5000 ng/dL. Las concentraciones de androstenediona y progesterona también se encuentran elevadas. Algunos niños con las formas virilizantes simples se presentan típicamente en periodo neonatal con pubarca prematuras y crecimiento del falo o clitoromegalia. La actividad plasmática de renina o las concentraciones directas de renina pueden estar elevadas en las formas virilizantes simples indicando que pueden estar compensadas por pérdida sub-clínica de sal.

Es importante hacer énfasis que la apariencia de los genitales externos reflejan la exposición y sensibilidad prenatal a los andrógenos.<sup>43</sup>

OTRAS FORMAS DE HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA.

### **DEFICIENCIA DE 11 $\beta$ -HIDROXILASA**

Es la segunda causa más común de hiperplasia suprarrenal y representa <8% de los casos de HSC y tiene una frecuencia de 1 en 200 000 en la población caucásica. Las características clínicas incluyen deficiencia glucocorticoide, secreción androgénica suprarrenal excesiva, hipertensión e hipokalemia. Esta enfermedad está asociada a mutaciones con pérdida de función de la 11  $\beta$ -hidroxilasa (CYP11B1) la cual obstruye el paso final en la biosíntesis de cortisol.<sup>44</sup>

---

En la deficiencia clásica de  $11\beta$ -hidroxilasa los signos típicos incluyen masculinización de genitales femeninos y pubertad precoz en ambos sexos, talla baja final, elevación de actividad mineralocorticoide, aumento de deoxicorticosterona y sus derivados que causan hipertensión.

En la forma no clásica al existir un exceso androgénico moderado, pueden ocasionar anomalías de los ciclos menstruales, hirsutismo y acné en mujeres previamente asintomáticas dando un cuadro clínico similar a la poliquistosis ovárica.<sup>45</sup>

El gen CYP11B1 está localizado en 8q21-22, ordenado en tándem con CYP11B2 gen que codifica la aldosterona sintetasa (P450aldo), estas enzimas son 93% idénticas en su secuencia aminoacídica pero difieren en sus patrones de expresión y en su actividad catalítica.<sup>46</sup>

### **DEFICIENCIA DE $3\beta$ -HIDROXIESTEROIDE DESHIDROGENASA O DEFICIENCIA DE ISOMERASA**

Esta clase de hiperplasia suprarrenal está asociada con ambigüedad genital de ambos sexos, este desorden es debido a mutaciones de la  $3\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 2 (HSD3B2), su producto proteico es expresado en la corteza adrenal y en las gónadas donde se convierte a  $\Delta^5$ esteroide, pregnenolona, 17-hidroxipregnenolona y DHEA a sus respectivos  $\Delta^4$ esteroides, progesterona, 17-OHP y androstenediona. La pérdida de la inhibición del “feedback” negativo cortisol lleva a un aumento de la síntesis DHEA en fetos 46,XX con conversión periférica de DHEA a andrógenos más potentes y a subsecuente virilización de los genitales externos. La pérdida de función por mutaciones de HSD3B2 interfiere con la biosíntesis de testosterona lo que ocasiona una sub-virilización de los genitales externos en fetos 46,XY. La insuficiencia adrenal aguda puede ocurrir en el periodo neonatal por mutaciones con pérdida de función lo que afecta a la vía mineralocorticoide, glucocorticoide y la de esteroides sexuales. La presentación típica de las formas no perdedoras de sal incluyen: pubarca prematura en niños con hirsutismo, anovulación crónica, oligo-amenorrea e infertilidad.<sup>47</sup>



---

---

Los hallazgos de laboratorio confirmatorios incluyen: concentraciones de 17-hidroxipregnenolona elevadas elevación de  $\Delta^5$  a  $\Delta^4$  esteroides; por ejemplo 17-hidroxipregnenolona a 17-hidroxiprogesterona y tasa elevadas de 17-hidroxipregnenolona a cortisol.<sup>48</sup>

### **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La Hiperplasia Suprarrenal Congénita es uno de los padecimientos genéticos más prevalentes en nuestro medio, el cuadro clínico se encuentra bien conocido y caracterizado, dentro de las manifestaciones clínicas, y el conocimiento de la enfermedad a nivel molecular permite una mejor comprensión y un manejo subsecuente adecuado para cada uno de estos pacientes; sin embargo existe una serie de signos y síntomas acompañantes dentro de este padecimiento que puede ocasionar un cuadro clínico variable dificultando el diagnóstico y ocasionando un mal tratamiento.

El estudio integral de los pacientes con datos de hiperandrogenismo no solo permitirá un diagnóstico adecuado sino además permitirá encaminar adecuadamente la aplicación de nuevas tecnologías para su diagnóstico integral.

## **OBJETIVOS**

---

### **Objetivo General**

Evaluar la frecuencia de alteraciones en el gen CYP21A2 en pacientes pediátricas con diferentes estadios hiperandrogénicos.

### **Objetivos Secundarios**

1. Comparar la sintomatología en los diferentes grupos de pacientes con hiperandrogenismo.
2. Establecer en base al estudio molecular la correlación genotipo, fenotipo.
3. Estandarizar el estudio molecular del gen CYP21A2 en pacientes con hiperandrogenismo.
4. Caracterizar las alteraciones de CYP21A2 en nuestra población.

## METODOLOGÍA

---

### **Sujetos**

Se reclutaron de Enero del 2008 a Diciembre del 2011 un total de 46 pacientes referidas del servicio de Endocrinología del Hospital Infantil de México Federico Gómez y del servicio de Genética Médica del Hospital General de México con signos y síntomas clínicos de hiperandrogenismo, incluyendo hirsutismo, pubarca prematura, acné y alteraciones menstruales.

A todas las pacientes se les realizó historia clínica detallada (antecedentes heredomamiliars, antecedentes perinatales, edad del desarrollo puberal y antecedentes patológicos). Se realizó antropometría completa peso, talla, perímetro de cintura, tensión arterial. En la exploración física se buscaron de manera intencionada datos relacionados con resistencia a la insulina (acantosis), e hiperandrogenismo (adrenarquia axilar, acné, pubarca e hirsutismo en base a la escala Ferriman-Gallwey) figura. Se consideró hirsutismo un puntaje en la escala  $\geq 8$ . Se pidió a las pacientes que llevaran un registro de los periodos menstruales y se definió la presencia de oligomenorrea en aquellas con ciclos mayores de 35 días o menos de ocho ciclos menstruales al año. Se definió amenorrea como la ausencia de sangrado menstrual en un periodo mayor de 6 meses.

Se realizaron estudios metabólicos tales como: glucosa e insulina de ayuno, perfil de lípidos completo (colesterol, triglicéridos, Col-HDL, y Col-LDL, con un ayuno mínimo de 12 horas). Se calculó el índice de resistencia a la insulina en base a HOMA (Homeostasis Model Assessment),  $HOMA-IR = [glucosa\ basal(mg/dL)/18 \times Insulina\ basal]$  22.5. Se realizó en todas las pacientes una prueba de estimulación con corticotropina (Synacthen®), 250 µg. Se tomó una muestra basal para cortisol y 17-hidroxiprogesterona, en seguida se administró la corticotropina por vía intravenosa y 60 minutos después se tomó una nueva muestra para evaluar los niveles alcanzados de cortisol y de 17-hidroxiprogesterona posterior al estímulo. Así mismo se tomaron niveles de andrógenos séricos (androstenediona, testosterona, dehidroepiandrosterona sulfato) en la fase folicular del ciclo menstrual cuando esto fue posible. En todas las pacientes se le realizó ultrasonido pélvico en la fase folicular del ciclo, con la finalidad de establecer criterios diagnósticos de síndromes de ovarios poliquísticos. En las pacientes pre-menarquicas se realizó estudio de edad ósea. En todos los casos se descartaron patologías específicas de hiperandrogenismo tales como: tumores ováricos o suprarrenales, Cushing, hipotiroidismo, hiperprolactinemia así como administración de medicamentos.

---

---

### **Criterios Clínicos:**

El diagnóstico bioquímico de hiperandrogenismo se estableció en todas las pacientes en base a niveles de testosterona total  $\geq 60$  ng/dL, y/o niveles de androstenediona  $\geq$  de 2.8 ng/ml.

Se otorgó el diagnóstico de SOP en base a la clasificación de Rotterdam: disfunción ovulatoria ya sea anovulación u oligo-ovulación con hiperandrogenismo clínico y/o hiperandrogenemia, y cambios morfológicos de ovario poliquístico por ultrasonido (12 o más folículos de 2 a 9 mm de diámetro en la periferia y/o un volumen de  $\geq 10$  cm<sup>3</sup> en uno o ambos ovarios), dos de los tres criterios establecen el diagnóstico de SOP, en todas las pacientes se consideró el diagnóstico una vez que habían alcanzado una edad ginecológica mayor de 2 años.

Se consideró el diagnóstico de hiperplasia suprarrenal congénita cuando clínicamente había manifestaciones de hiperandrogenismo, además de antecedente o presencia de adrenarquia o pubarca prematura con talla alta ( $>2$  SD de talla blanco familiar) y edad ósea acelerada.

El diagnóstico de hiperandrogenismo idiopático (HAI) se realizó en las pacientes en las que existían datos clínicos y bioquímicos de hiperandrogenismo, sin criterios de hiperplasia suprarrenal congénita y que no habían cumplido 2 años de edad ginecológica.

### **Metodología**

#### **Extracción de DNA de sangre periférica**

- Previa técnica de asepsia y antisepsia se obtuvo 3ml de sangre periférica
- La muestra se recolectó en un tubo con EDTA
- Se realizó extracción de DNA con PerfectPure™ DNA Blood Kit

---

---

En todas las muestras obtenidas se llevó a cabo un análisis espectrofotométrico con lecturas a una longitud de onda de 260 y 280 nm. La concentración de DNA fue calculada mediante la siguiente relación:

$$1 \quad DO_{260} = 50 \text{ mg de DNA/ ml}$$

La pureza del DNA se obtuvo mediante la relación de densidades ópticas obtenidas con las lecturas 260/280 nm y se consideró como óptima una relación 1.8-2.0. Para determinar la calidad de las muestras se realizó electroforesis en gel de agarosa al 1.2% teñida con bromuro de etidio al 0.0002%.

### **ANALISIS DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA**

Se analizaron los 10 exones y las uniones intrón-exón del gen de la 21-hidroxilasa. La amplificación de DNA se realizó a través de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los reactivos necesarios para esta reacción son:

| <b>TABLA 1</b>            |
|---------------------------|
| Buffer con Mg 10X         |
| MgCl <sub>2</sub> 25 mM   |
| dNTPs 10mM                |
| Oligonucleótidos 100mM    |
| Taq Polimerasa Gold 5U µl |
| Agua 25 ml                |

La mezcla de los reactivos anteriores forma la Master Mix, a la cual se le agregó el DNA obtenido de cada paciente. Esta muestra se colocó en el termociclador GeneAmp PCR System 2700 de Applied Biosystems para la amplificación se utilizaron las condiciones de la tabla 2 y 3.

| Tabla 2. PCR Amplificación |            |
|----------------------------|------------|
| H2O                        | 14.2       |
| Buffer s/Mg 10X            | 2.5        |
| Mg 50 mM                   | 0.75       |
| dNTPs 10 mM                | 0.5        |
| BSA 0.1 mg/ $\mu$ L        | 2.5        |
| HiDi (Formamida)           | 0.75       |
| DNA 100 ng/ $\mu$ l        | 1          |
| Forward 10 nM              | 0.25       |
| Reverse 10 nM              | 0.25       |
| Taq                        | 0.3        |
| Total                      | 25 $\mu$ L |

---

---

**Tabla 3. F R A G M E N T O S**

|   |        |     |                       |
|---|--------|-----|-----------------------|
| A | 711pb  | 5s  | GTGGGAGGGTACCTGAAG    |
|   |        | 12a | CCTGCTTTCTCCCCACCA    |
| B | 157pb  | 12s | ATCTGGTGGGGAGAAAGC    |
|   |        | E3a | AGAGCAGGGAGTAGTCTC    |
| C | 678pb  | E3s | CTGTCCTTGGGAGACTAC    |
|   |        | E6a | CTGCATCTCCACGATGTGAT  |
| D | 1798pb | E6s | AGGGATCACATCGTGGAGAT  |
|   |        | 17s | TGGGTTGCTGAGGGAGCG    |
|   |        | 19s | TGAAAATGTGGTGGAGG     |
|   |        | 3a  | CGCTGCAGAGGATTGAGGCTT |

| Tabla. 4 Condiciones de los Fragmentos |       |       |                                      |       |       |
|--|-------|-------|--------------------------------------|-------|-------|
| Condiciones para los fragmentos A y B  |       |       | Condiciones para los segmentos C y D |       |       |
| 94°C                                   | 5 min | } 35X | 94°C                                 | 5 min | } 35X |
| 94°C                                   | 1 min |       | 94°C                                 | 1 min |       |
| 62°C                                   | 1 min |       | 58°C                                 | 1 min |       |
| 72°C                                   | 1 min |       | 72°C                                 | 2 min |       |
| 72°C                                   | 7 min |       | 72°C                                 | 7 min |       |
| 4°C                                    | ∞     |       | 4°C                                  | ∞     |       |

TABLA 4

Se realizó una electroforesis con los productos amplificados en un gel de agarosa al 1.5%.

### **Purificación de los productos de PCR**

La purificación del producto de PCR a partir del gel de agarosa, se realizó utilizando el kit QIAEX II gel Extration (Quiagen, Chatsworth, CA. USA). Se cortó la banda del gel con el producto amplificado, se colocó en un tubo de microcentrífuga de 1.5 ml, se pesó y agregó buffer QX1 pH 7.5 y 6 µl de resina QX2, se agitó la mezcla, se colocó a 55°C durante 15 minutos (agitando cada 3 minutos). Una vez disuelta la agarosa, esta se eliminó mediante centrifugación durante un minuto a 9,221gr; se decantó el sobrenadante y el botón se resuspendió en 500 µl de buffer QX1, se agitó vigorosamente y se centrifugó en las mismas condiciones ya mencionadas. Una vez que se decantó el sobrenadante, el exceso de buffer se retiró con una pipeta hasta dejar únicamente el botón que contenía el DNA el cual fue resuspendido en 350 µL de buffer PE ( que contiene principalmente alcohol). Se centrifugó nuevamente y se lavó con buffer PE, una vez que se decantó se colocó a



---

---

a 55°C durante 10 minutos hasta que se secó la muestra, la cual se resuspendió en un volumen de 27 µl con agua destilada y deionizada.

Se incubó durante toda la noche a 4°C, para centrifugarse en las mismas condiciones, el sobrenadante fue recuperado y se utilizó como templado

### **Secuenciación automatizada directa por método Sanger**

Se realizó una reacción de secuencia utilizando el producto purificado por medio de una reacción de PCR de una sola cadena y se incorporaron dNTPs marcados con fluorescencia utilizando el reactivo Big Dye (Applied Biosystems). El programa de amplificación que se utilizó es el siguiente:

### **Purificación de DNA**

Se realizó mediante columnas con el kit Center-Sep (Spin Columns) de Pricenton Separations. Se colocaron 2 tubos, cada uno con un oligo diluido (1mM). Para la hidratación de las columnas, éstas se lavaron con agua destilada y se agregó 0.06 gr de sephadex; una vez que estuvieron secas y limpias. Se agregó 800 µl de agua destilada y se hidrataron por 2 horas. Se colocaron en 2 tubos de 2 ml y se centrifugaron a 3,000 RPM durante 3 minutos para eliminar el exceso de agua.

La columna se colocó en tubos de 500 µl, se agregó el producto de PCR (obtenido del paso anterior) sin tocar el sephadex y se centrifugó a 3,000 RPM por 3 minutos. Se dejó secar el producto con el secador o ventilación y se resuspendió en 20 µl de TSR (Template Supresion Reagent). Para la secuenciación del producto de DNA secuenciación del producto de DNA secuencia específica, éste se desnaturalizó incubándose a 95°C por 5 minutos e inmediatamente después se colocó en hielo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se estudiaron un total de 46 pacientes, con síntomas clínicos y bioquímicos de hiperandrogenismo y en base a los criterios descritos previamente se clasificaron en 3 grupos: Hiperandrogenismo idiopático (HAI n= 10 pacientes) que corresponde a 21.7%, Síndrome de ovarios poliquísticos (SOP n=25 pacientes) que corresponde a 54.3% e Hiperplasia suprarrenal congénita (HSC n=11 pacientes) que corresponde a 23.9%. Del total de 46 pacientes, 8 presentaron un cambio en la secuencia del gen CYP21A2, estos cambios se observan en la siguiente tabla:

**TABLA 5. HALLAZGOS BIOQUÍMICOS Y MOLECULARES DE PACIENTES CON ALTERACIONES EN EL GEN CY21A2**

| CASO | DIAGNÓSTICO CLÍNICO | EDAD (meses) | pcIMC | HOMA | 17OHP basal (ng/mL) | 17OHP post ACTH (ng/mL) | DHEAs (µg/dL) | Andros-tenediona (ng/mL) | Alteración del gen CYP21A2   |
|------|---------------------|--------------|-------|------|---------------------|-------------------------|---------------|--------------------------|--|
| 1    | HSC                 | 171          | 80    | 0.88 | 20                  | 29                      | 150           | 2.11                     | <b>IVS-II-656</b><br>“ <i>splicing</i> ” aberrante   |
| 2    | HSC                 | 181          | 90    | 2.32 | 17.3                | 17.3                    | 210           | 2.9                      | <b>I172N</b><br>Abolición de actividad P450c21   |
| 3    | HAI                 | 132          | 70    | 1.25 | 2.1                 | 2.9                     | 55.4          | 1.64                     | <b>P267L</b><br>Actividad enzimática disminuida  |
| 4    | SOP                 | 234          | 85    | 1.26 | 3.3                 | 3.9                     | 205           | 3.27                     | <b>S268T</b><br>Polimorfismo   |
| 5    | SOP                 | 176          | 99    | 2.25 | 1.2                 | 3.2                     | 228           | 5.06                     | <b>S268T</b><br>Polimorfismo   |
| 6    | HSC                 | 100          | 90    | 0.84 | 2.8                 | 5.7                     | 83.9          | 1.32                     | Exón 6 (C/T rs6465)<br>Exón 7 (C/G rs6477)   |
| 7    | HSC                 | 127          | 5     | 0.42 | 3.9                 | 5.5                     | 96            | 0.65                     | Intrón 3 homocigoto rs76565726 T/C<br>Exón 1 heterocigoto rs6468 C/T<br>Exón 1 heterocigoto rs6464 C/A |
| 8    | HSC                 | 94           | 80    | 1.40 | 0.9                 | 12.6                    | 100           | 0.30                     | Exón 3 heterocigoto G>C P106<br>Intrón 6 homocigoto C>T<br>Polimorfismo                                |

Del grupo de pacientes en el que se detectaron alteraciones del gen CYP21A2 el 33% mostró sobrepeso y el resto un IMC en rangos normales. Ninguna era obesa. En base a la clasificación original de los grupos, se detectó la presencia de alteraciones moleculares del gen CYP21A2 en el 10% de las pacientes con HAI, en el 8% en SOP y en el 45.4% en grupo de HSC.

Así mismo se muestran las características antropométricas y demográficas de los tres grupos donde se evidencia una media de edad mayor del grupo de pacientes con SOP. Estas pacientes muestran también un fenotipo antropométrico de mayor riesgo (obesidad y síndrome metabólico) que es muy semejante al que se observa en las pacientes del grupo HAI (percentil de IMC). Las pacientes con HSC muestran una diferencia significativa en estos parámetros en comparación con los otros dos grupos.

Los niveles séricos de DHEAS se observan más elevados en el grupo de HSC.

En relación a la respuesta de estimulación con corticotropina se evidencia una franca tendencia a niveles más altos de 17-OHP basales y en el post-estímulo en el grupo de HSC en comparación con los otros dos grupos. Comparando el grupo de HAI y SOP no se evidencian diferencias aunque la tendencia muestra niveles ligeramente más altos en el grupo de SOP.

**TABLA 6. DATOS CLÍNICOS DE HIPERANDROGENISMO POR GRUPO**

| VARIABLE                                       | HAI  | SOP   | HSC  |
|--|------|-------|------|
| Acné   | 5/10 | 14/25 | 9/11 |
| Oligomenorrea                                  | 1/10 | 13/25 | 1/11 |
| Pubarca prematura                              | 4/10 | 1/25  | 6/11 |
| Pubertad precoz                                | 0/10 | 0/25  | 1/11 |
| USG (características de ovarios poliquísticos) | 1/10 | 18/25 | 2/11 |

En el grupo de HAI, el acné se presentó en un 50%, oligomenorrea en un 10%, antecedentes de pubarca prematura 40%, y las alteraciones ecográficas estuvieron presentes en un 10%.

En el grupo de SOP, el acné se manifestó en 56% de las pacientes, la oligomenorrea en 52%, pubarca prematura en 4%, y las alteraciones en ultrasonido en 72%.

En HSC, el acné en 81%, oligomenorrea en 9%, pubarca prematura en 54.5%, pubertad precoz en 9%, alteraciones en ecografía 45%.

**TABLA 7. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA POBLACION ESTUDIADA DEFINIDA POR LA PRESENCIA O AUSENCIA DE ALTERACIÓN EN EL GEN CYP21A2**

| Variable     | CYP21A2 alterado                      | CYP21A2 sin alteración                | Significancia(P) |
|--------------|---------------------------------------|---------------------------------------|------------------|
| Edad (meses) |                                       |                                       |                  |
| 84-120       | 3 (37.5%)                             | 5 (62.5%)                             | 0.293*           |
| 121-252      | 5 (14.7%)                             | 29 (85.3%)                            |                  |
| >253         | 1 (100%)                              | 0                                     |                  |
| Diagnóstico  |                                       |                                       |                  |
| SOP          | 1 (4.2%)                              | 23 (95.8%)                            | .017*            |
| HSC          | 4 (44.4%)                             | 5 (55.6%)                             |                  |
| HAI          | 3 (30%)                               | 7 (79%)                               |                  |
| pcIMC        | $\bar{X} = 90.88$<br>(min.50, max.99) | $\bar{X} = 91.97$<br>(min.50, max.99) | .78 <sup>+</sup> |
| HOMA         | $\bar{X} = 3.25$<br>(0.45-26.4)       | $\bar{X} = 3.77$<br>(0.45-26.4)       | .69 <sup>+</sup> |

\* Chi<sup>2</sup>

+ t student muestras independientes

**TABLA 8. Niveles de androgénicos evaluados en las pacientes estudiadas, en base a la presencia o ausencia de alteraciones en el gen CYP21A2**

| Variable                     | CYP21A2 con alteración | CYP21A2 sin alteración        | Significancia (P) |
|------------------------------|------------------------|-------------------------------|-------------------|
| 17-OHP basal (ng/mL)         | 4.46 (DS 6.42)         | $\bar{X}$ = 3.62 (DS 7.09)    | 0.758             |
| 17-OHP post-<br>ACTH (ng/mL) | 8.65 (DS 8.8)          | $\bar{X}$ = 10.56 (DS 22.07)  | 0.813             |
| DHEAs (μg/dL)                | 159.4 (DS 114.5)       | $\bar{X}$ = 235.9 (DS 130.71) | .135              |

La frecuencia de alteraciones moleculares del gen CYP21A2 en mujeres mestizas de nuestro país con datos de hiperandrogenismo aún no se ha establecido. En nuestra muestra de 46 pacientes encontramos una frecuencia de estas alteraciones en el 17.3%. Las alteraciones en el gen CYP21A2 en nuestra muestra correspondieron a mutaciones descritas en la literatura en pacientes con variedades clásicas y no clásicas de HSC en 3 de 8 pacientes (37.5%) y a polimorfismos en 5 de ellas (62.5%); solo 2 de los polimorfismos han sido previamente descritos. Interesantemente en este estudio encontramos que los polimorfismos se relacionaron con una expresión fenotípica que fue muy evidente.

En estos momentos sería importante considerar que no podemos hablar de fenómenos de penetrancia o expresividad ya que los polimorfismos en teoría no se relacionan a la presencia de patología.

Estudios realizados en varios grupos étnicos reportan una prevalencia del 8.4% de variedades no clásicas de HSC (con diagnóstico genético) en pacientes con hiperandrogenismo. Nuestro universo de pacientes mostró mutaciones que han sido previamente descritas (P267L, I172L, IV-II-656.).

La mutación IV-II-656, altera el “*splicing*” del pre-mRNA activando otro sitio aceptor para este proceso, ocasionando el cambio en el marco de lectura y provocando una terminación prematura en el

proceso de traducción. Esta mutación lleva a una actividad enzimática de ~2.0% y se ha asociado al 25% de los alelos con deficiencia de CYP21A2 en su forma clásica y el 51% de los alelos en la forma perdedora de sal, sin embargo las pacientes que presentan esta mutación, muestran heterogenicidad fenotípica que se extienden desde formas clásicas perdedoras de sal de HSC hasta portadores asintomáticos<sup>50</sup>. La mutación P267L presenta una actividad enzimática casi igual a la del alelo silvestre y es una mutación relativamente común en formas no clásicas de HSC. I172N es una mutación puntual que ocasiona una mutación sin sentido y muestra fenotipos muy variables, está relacionada a la forma clásica virilizante simple con una actividad enzimática de ~2%, a pesar de existir una actividad enzimática baja, no se afecta la síntesis de aldosterona evitando así los efectos clínicos subsecuentes. Del total de las alteraciones en el gen CYP21A2 5 de ellas estuvieron en el grupo de HSC (62.5%) y de estas, 2 resultaron mutaciones (40%) y 3 fueron polimorfismos (60%), 1 cambio en el gen CYP21A2 que resultó ser mutación se encontró en el grupo de HAI (12.5%) y 2 de estas alteraciones (ambos fueron polimorfismos) (25%) están dentro del grupo de SOP. De los polimorfismos encontrados, S268T conserva la actividad enzimática normal, este no participa directamente en la catálisis de P450c21<sup>(51)</sup>. De los polimorfismos encontrados rs76565726 se encontró como heterocigoto, rs6468 fue heterocigoto, rs6464 heterocigoto, rs 6454 homocigoto, estos polimorfismos involucraron de manera importante los exones 1 y 6 y los intrones 1 y 3.

Los resultados de este protocolo arrojan que las pacientes con HSCNC son bioquímicamente casi indistinguibles de las pacientes que padecen SOP y que la curva de estimulación con ACTH de 17-OHP puede dar pauta para la diferencia entre estas dos enfermedades.

Así mismo existen características clínicas muy sutiles entre las pacientes que pueden indicar una diferencia entre ambos grupos, como la talla y la velocidad de crecimiento, pubarca prematura y pubertad precoz, las cuales se encontraron en mayor proporción en el grupo de pacientes con diagnóstico clínico de hiperplasia suprarrenal congénita, y de acuerdo a los hallazgos de este estudio los datos de hiperandrogenismo fueron más palpables en el grupo de SOP.

Particularmente llama la atención que las 3 pacientes que mostraron polimorfismos tenían manifestaciones importantes de hiperandrogenismo (que se presentaron alrededor de los 7 años) que condicionaron aceleración en la velocidad del crecimiento y en la edad ósea, así como progresión rápida de los datos de pubertad, agregándose telarca. En estas tres pacientes fue necesaria la administración de análogo de GnRH para retrasar esta progresión y mejorar la predicción de estatura final.

Las alteraciones metabólicas fueron más evidentes en el grupo de SOP que muy probablemente están en relación al evento fisiopatogénicos que caracteriza a estas mujeres y que es la resistencia a la insulina. La respuesta metabólica y bioquímica entre el grupo de HAI y SOP es muy semejante y diferente al grupo de HSC, lo cual sugiere que efectivamente las pacientes con hiperandrogenismo se encuentran en una fase evolutiva temprana de un SOP. Interesantemente en estos dos grupos de pacientes las alteraciones encontradas en el gen fueron mutaciones y no polimorfismos.

Los resultados de la determinación del genotipo CYP21 realizado en este estudio, destaca la importancia de excluir HSCNC en mujeres que exhibían datos de hiperandrogenismo.

---

Asumiendo que la mayoría de los desórdenes que causan exceso de andrógenos, llegan a ser evidentes clínicamente en etapas puberales, estos datos sugieren que la mayoría de los pacientes no son diagnosticados, evaluados y tratados en el momento adecuado.

## CONCLUSIONES

---

LA HSCNC es una enfermedad autosómica recesiva común, (1 en 1 700 en la población general)<sup>50</sup> que puede presentarse en una población amplia que abarca desde la pubertad hasta la adultez.

Mucho se ha aprendido acerca de la fisiopatología y la genética de los desordenes esteroidogénicos asociados con signos y síntomas de hiperandrogenismo. Sin embargo los signos clínicos como el hirsutismo, oligomenorrea, infertilidad, acné, y pubarca prematura, comunes en este padecimiento, dan lugar a un sesgo en la identificación de estos pacientes, ocasionando confusión entre los pacientes con HSCNC y los pacientes que padecen SOP.

Un dato importante es la historia familiar en pacientes con SOP, ya que sus madres pueden presentar también datos de SOP. Las madres con hijos que padecen HSCNC tienen pocos signos y síntomas de exceso androgénico.

Es importante hacer énfasis en el estudio molecular dentro del protocolo de estudio de hiperandrogenismo, ya que pacientes diagnosticados como SOP, resultan tener una mutación que confirma el diagnóstico de HSC.

Además existe evidencia que muestra que los pacientes con HSCNC presentan datos de resistencia a la insulina y síndrome metabólico.



La HSCNC no debe de considerarse una condición fatal y el tratamiento específico debe de ser individualizado y dirigido a los síntomas y a las necesidades médicas de cada individuo.

Este estudio deja como una tarea importante realizar la correlación genotipo- fenotipo en las pacientes, ya que muchas de ellas muestran datos de hiperandrogenismo aún en la presencia de polimorfismos, lo cual no ha sido descrito en la literatura.

## ABREVIATURAS

---

CBG.: Globulina fijadora de Corticosteroides

DHEA.: Dehidroepiandrosterona

DNA: Ácido desoxirribonucleico

FSH.: Hormona Foliculo-estimulante

17-OH.: 17-hidroxiprogesterona

HSC. : Hiperplasia suprarrenal congénita

HSCNC.: Hiperplasia suprarrenal congénita no clásica

HSD3B2.: 3 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 2

LH.: Hormona Luteinizante

PCR.: Reacción en cadena de la Polimerasa. Método en la que una secuencia de DNA o RNA es amplificada.

RNA: Ácido Ribonucleico.

SOP.: Síndrome de ovario poliquístico

TDS.: Trastorno de la diferenciación sexual

## GLOSARIO

---

**Fenotipo:** Expresión del genotipo en un determinado ambiente.

**Gen:** Secuencia ordenada de nucleótidos en una molécula de DNA que contiene la información adecuada para la síntesis de una proteína o RNA.

**Genotipo:** Es la totalidad de información genética que posee un organismo en particular en su DNA.

**Hipogonadismo:** Tomando su etimología: *Hipo:* carencia de o defecto de, *gónada:* órgano sexual. Trastorno en testículos u ovarios que los hace no funcionales.

**Hirsutismo:** Crecimiento excesivo de vello terminal en mujeres siguiendo un patrón masculino de ubicación andrógeno-dependiente.

**Mutación:** Cualquier cambio heredable en la secuencia de DNA que conduce a enfermedad.

**Pubarca prematura:** Desarrollo de vello púbico y axilar y/o incremento de actividad apócrina antes de los 8 años en niñas y 9 años en niños.

**Síndrome de Ovario Poliquístico:** Desorden endócrino causado por desbalance hormonal. Debe cumplir 2 de estos 3 criterios: oligo-ovulación o anovulación, exceso de actividad androgénica, ovarios poliquísticos (por ecografía).

---

**Trastorno de la Diferenciación Sexual:** Alteración a nivel genético, endocrinológico u otro, que lleve a la inadecuada formación de los genitales internos y/o externos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

1. Demirci, C. & Witchel, S. F. Congenital adrenal hyperplasia. *Dermatol Ther* **21**, 340–353 (2008).
2. Escobar-Morreale, H. F., Sanchon, R. & San Millan, J. L. A Prospective Study of the Prevalence of Nonclassical Congenital Adrenal Hyperplasia among Women Presenting with Hyperandrogenic Symptoms and Signs. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **93**, 527–533 (2008).
3. Speiser, P. W. Nonclassic adrenal hyperplasia. *Rev Endocr Metab Disord* **10**, 77–82 (2008).
4. Prunty, F. T. G. *The Adrenal Cortex*. 315 (CUP Archive: 1957).
5. Seifter, J., Sloane, D. & Ratner, A. *Concepts in medical physiology*. 669 (2005).
6. Moore, K. L. & Persaud, T. V. N. *Embriología Clínica*. 522 (Elsevier: 2009).
7. Henrikson, R. C., Kaye, G. I. & Mazurkiewicz, J. E. *Histology*. 512 (Lippincott Williams & Wilkins: 1997).
8. Ciba Foundation Symposium Lastciba Foundation Symposium *The Human Adrenal Cortex*. 352 (Wiley: 2009).
9. New, M. I. An Update of Congenital Adrenal Hyperplasia. *Annals of the New York Academy of*

- Sciences* **1038**, 14–43 (2004).
10. Maiti, A. & Chatterjee, S. Congenital adrenal hyperplasia: An Indian experience. *Journal of Paediatrics and Child Health* **47**, 883–887 (2011).
  11. Goto, M. *et al.* Steroidogenic enzyme expression within the adrenal cortex during early human gestation. *Endocr. Res.* **28**, 641–645 (2002).
  12. Wallace, I., Cunningham, S. & Lindsay, J. The diagnosis and investigation of adrenal insufficiency in adults. *Annals of Clinical Biochemistry* **46**, 351–367 (2009).
  13. Miller, W. Clinical review 54: genetics, diagnosis, and management of 21-hydroxylase deficiency. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **78**, 241–246 (1994).
  14. *Physiological Reviews. Physiological Reviews*
  15. Auchus, R. J. Non-traditional metabolic pathways of adrenal steroids. *Rev Endocr Metab Disord* **10**, 27–32 (2008).
- 

16. Ghizzoni, L. *et al.* Relationship of CYP21A2 genotype and serum 17-hydroxyprogesterone and cortisol levels in a large cohort of Italian children with premature pubarche. *European Journal of Endocrinology* **165**, 307–314 (2011).
17. *AJP: Endocrinology and Metabolism. AJP: Endocrinology and Metabolism*
18. Chawnsang, C. *Androgens and Androgen Receptor*. 503 (Springer: 2002).
19. Lieberman, M. & Marks, A. D. *Marks' Basic Medical Biochemistry*. 1024 (Lippincott Williams & Wilkins: 2008).
20. Schnaider-Rezek, G. S. *et al.* Metabolic evaluation of young women with congenital adrenal hyperplasia. *Arq Bras Endocrinol Metabol* **55**, 646–652 (2011).
21. Flück, C. E. *Disorders of the human adrenal cortex*. 163 (S Karger Ag: 2008).
22. Roberge, C. *et al.* Adrenocortical dysregulation as a major player in insulin resistance and onset of obesity. *AJP: Endocrinology and Metabolism* **293**, E1465–E1478 (2007).
23. Ghizzoni, L. *et al.* Relationship of CYP21A2 genotype and serum 17-hydroxyprogesterone and cortisol levels in a large cohort of Italian children with premature pubarche. *European Journal of Endocrinology* **165**, 307–314 (2011).
24. Williams, R. M. *et al.* Insulin sensitivity and body composition in children with classical and nonclassical congenital adrenal hyperplasia. *Clinical Endocrinology* **72**, 155–160 (2010).

25. Miller, W. L. & Morel, Y. The molecular genetics of 21-hydroxylase deficiency. *Annu. Rev. Genet.* **23**, 371–393 (1989).
26. Stratakis, C. A. & Bossis, I. Genetics of the adrenal gland. *Rev Endocr Metab Disord* **5**, 53–68 (2004).
27. Dain, L. B. *et al.* Classical and nonclassical 21-hydroxylase deficiency: a molecular study of Argentine patients. *Clinical Endocrinology* **56**, 239–245 (2002).
28. Robins, T., Carlsson, J., Sunnerhagen, M., Wedell, A. & Persson, B. Molecular Model of Human CYP21 Based on Mammalian CYP2C5: Structural Features Correlate with Clinical Severity of Mutations Causing Congenital Adrenal Hyperplasia. *Molecular Endocrinology* **20**, 2946–2964 (2006).
29. Anastasovska, V. & Kocova, M. Intron 2 Splice Mutation at CYP21 Gene in Patients with Congenital Adrenal Hyperplasia in the Republic of Macedonia. *Balkan Journal of Medical*

*Genetics* **13**, 27–33 (2011).

30. Strachan, T. Molecular pathology of congenital adrenal hyperplasia. *Clinical Endocrinology* **32**, 373–393 (1990).
31. Demirci, C. & Witchel, S. F. Congenital adrenal hyperplasia. *Dermatol Ther* **21**, 340–353 (2008).
32. Vieira, A. *et al.* [Late onset congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency: revision of literature and preconception genetic study of five couples]. *Acta Med Port* **24**, 99–110 (2011).
33. Penagos, M. A. & de Pediatría, S. M. *Cuidados intensivos en pediatría*. 297 (1978).
34. Loechner, K. J., McLaughlin, J. T. & Calikoglu, A. S. Alternative Strategies for the Treatment of Classical Congenital Adrenal Hyperplasia: Pitfalls and Promises. *International Journal of Pediatric Endocrinology* **2010**, 1–10 (2010).
35. Azziz, R. Androgen Excess in Women: Experience with Over 1000 Consecutive Patients. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **89**, 453–462 (2004).
36. Ogilvie, C. M. *et al.* Congenital adrenal hyperplasia in adults: a review of medical, surgical and psychological issues. *Clinical Endocrinology* **64**, 2–11 (2006).
37. Vieira, A. *et al.* [Late onset congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency: revision of literature and preconception genetic study of five couples]. *Acta Med Port* **24**, 99–110

- (2011).
38. Arnaout, M. A. Late-onset congenital adrenal hyperplasia in women with hirsutism. *Eur. J. Clin. Invest.* **22**, 651–658 (1992).
  39. Mahesh, V. B. Hirsutism, virilism, polycystic ovarian disease, and the steroid-gonadotropin-feedback system: a career retrospective. *AJP: Endocrinology and Metabolism* **302**, E4–E18 (2011).
  40. Moran, C. Reproductive Outcome of Women with 21-Hydroxylase-Deficient Nonclassic Adrenal Hyperplasia. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **91**, 3451–3456 (2006).
  41. Witchel, S. F. & Azziz, R. Nonclassic Congenital Adrenal Hyperplasia. *International Journal of Pediatric Endocrinology* **2010**, 1–11 (2010).
  42. Borai, A., Livingstone, C. & Ferns, G. A. A. The biochemical assessment of insulin resistance. *Annals of Clinical Biochemistry* **44**, 324–342 (2007).
- 
43. Vaidya, B., Pearce, S. & Kendall-Taylor, P. Recent advances in the molecular genetics of congenital and acquired primary adrenocortical failure. *Clinical Endocrinology* **53**, 403–418 (2000).
  44. Spoudeas, H. A., Slater, J. D., Rumsby, G., Honour, J. W. & Brook, C. G. Deoxycorticosterone, 11 beta-hydroxylase and the adrenal cortex. *Clinical Endocrinology* **39**, 245–251 (1993).
  45. al-Jurayyan, N. A. Congenital adrenal hyperplasia due to 11 beta-hydroxylase deficiency in Saudi Arabia: clinical and biochemical characteristics. *Acta Paediatr.* **84**, 651–654 (1995).
  46. Joehrer, K. *et al.* CYP11B1 mutations causing non-classic adrenal hyperplasia due to 11 beta-hydroxylase deficiency. *Hum. Mol. Genet.* **6**, 1829–1834 (1997).
  47. Stratakis, C. A. & Rennert, O. M. Congenital adrenal hyperplasia: molecular genetics and alternative approaches to treatment. *Crit Rev Clin Lab Sci* **36**, 329–363 (1999).
  48. Bentsen, D., Schwartz, D. & Carpenter, T. O. Sonography of congenital adrenal hyperplasia due to partial deficiency of 3  $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase: a case report. *Pediatric radiology* **27**, 594–595 (1997).
  49. Marino, R. *et al.* Steroid 21-hydroxylase gene mutational spectrum in 454 Argentinean patients: genotype-phenotype correlation in a large cohort of patients with congenital adrenal hyperplasia.

*Clinical Endocrinology* **75**, 427–435 (2011).

50. Anastasovska. V., *et al.* Intron 2 splice mutation at CYP21 gen in patients with congenital adrenal hyperplasia in the Republic of Macedonia. *Balkan Journal of Medical Genetics*, 13/2, 27-33, 2010.
51. Du-An Wu and Bon-chu Chung Mutations of P450c21 (Steroid 21-Hydroxylase) at Cys<sup>42</sup>, Val<sup>281</sup>, and Ser<sup>268</sup> result in Complete, Partial, or No Loss of Enzymatic Activity, Respectively, *Journal of Clinical Investigation* **88**:519-523, (1991)