



EDITORIAL

Cribado neonatal de hiperplasia suprarrenal congénita

Newborn screening of congenital adrenal hyperplasia



Elena Dulín Iñiguez^{a,*} y Begoña Ezquieta Zubicaray^b

^a Laboratorio de Cribado Neonatal de la Comunidad de Madrid, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España

^b Laboratorio de Diagnóstico Molecular, Servicio de Bioquímica, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España

Disponible en Internet el 11 de diciembre de 2017

La hiperplasia suprarrenal congénita (HSC), de herencia autosómica recesiva, se produce por la deficiencia enzimática en la esteroidogénesis. La deficiencia de 21- α -hidroxilasa (21OHD, OMIM #201910) constituye el 95% de las posibles hiperplasias. La disminución en la síntesis de cortisol provoca aumento de ACTH con acúmulo de 17-hidroxiprogesterona (17OHP), metabolito previo al bloqueo enzimático. Si la deficiencia enzimática afecta la vía de síntesis de aldosterona dará lugar a la alteración del balance hidrosalino. Como consecuencia del bloqueo enzimático se produce un aumento de la síntesis de andrógenos suprarrenales, vía metabólica no afectada¹.

Clínicamente se clasifica en formas clásicas y no clásicas. Las formas clásicas a su vez se dividen en dos: forma con pérdida salina (PS) y forma virilizante simple (VS).

El aumento excesivo de andrógenos en época fetal precoz da lugar a la virilización de los genitales externos del feto femenino afectado. El grado de virilización es variable (clasificación de Prader). En el feto varón afecto puede aparecer, aunque no en todos los casos, macrogenitosomía.

La pérdida salina ocurre en el 75% de los pacientes afectados de formas clásicas. Los recién nacidos afectados presentan un cuadro progresivo de anorexia, falta de ganan-

cia ponderal, decaimiento, poliuria y vómitos. Si no se reconoce el cuadro y no se instaura de forma inmediata el tratamiento se produce la deshidratación hipotónica, shock cardiogénico y muerte. La crisis salina se presenta entre el 5.º-10.º día de vida. El tratamiento con hidrocortisona debería instaurarse de forma inmediata, con el objetivo de reemplazar la secreción fisiológica de glucocorticoides y mineralocorticoides y evitar la pérdida salina.

La incidencia de la enfermedad (formas clásicas) varía dependiendo de las poblaciones estudiadas, oscilando entre 1/10.000 y 1:20.000².

La detección precoz de las formas clásicas de la HSC está incorporada en los Programas de Cribado Neonatal (PCN) en numerosos países, y cumple los criterios clásicos de inclusión en los PCN. Estos criterios redactados por Wilson y Junger³ siguen vigentes, pudiendo resumirse en 4 puntos fundamentales:

- 1 La enfermedad produce una severa morbilidad (posible mortalidad), no siendo fácilmente reconocible clínicamente en el periodo neonatal.
- 2 Existencia de un tratamiento eficaz, inmediato y de fácil realización. La intervención médica adecuada reduce la morbilidad y las posibles discapacidades asociadas.
- 3 Relativa alta frecuencia (> 1/10.000-15.000).
- 4 Existencia de un parámetro de cribado y un procedimiento analítico sensible y específico, que sea simple, fiable, rápido y económico.

* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: begona.ezquieta@salud.madrid.org, bezqzubi@gmail.com (E. Dulín Iñiguez).

Los PCN están considerados como una actividad esencial de Salud Pública, dirigida a la identificación presintomática de determinadas enfermedades endocrinometabólicas mediante el uso de pruebas que puedan ser aplicadas a toda la población objeto del cribado. La detección precoz, la intervención médica adecuada y el tratamiento inmediato evitan el daño neurológico, reducen la morbilidad, mortalidad y las posibles discapacidades asociadas a estas enfermedades.

Los PCN deben estar claramente identificados en las políticas de Salud Pública de las comunidades autónomas (CC. AA.). De las Direcciones de Salud Pública dependen su promoción, las decisiones y la planificación y deberían tener en cuenta aspectos esenciales como son: 1) información dirigida a los padres acerca de los objetivos, las enfermedades que incluyen, los análisis que se realizan y los beneficios para el recién nacido que conlleva el cribado; 2) disponer de un laboratorio de Cribado Neonatal; 3) disponer de un laboratorio de Diagnóstico Diferencial; 4) integrar Unidades de Seguimiento Clínico que completen y validen los beneficios del programa. Además, los PCN deberán estar financiados en su conjunto por las correspondientes CC. AA.

Los objetivos de la detección precoz de la HSC son:

- 1 Identificar las formas clásicas severas, evitando la instauración de cuadros graves de deshidratación, shock y muerte, especialmente en los recién nacidos varones con formas PS.
- 2 Evitar la asignación incorrecta de sexo en las recién nacidas niñas con genitales muy virilizados y las secuelas derivadas.
- 3 Detectar las formas VS para evitar la hiperandrogenización.

Los beneficios de cribar la HSC muestran:

- 1 La mejora de la supervivencia. En países en que no existe cribado neonatal de la HSC la incidencia descrita es superior en niñas que en niños⁴.
- 2 La prevención de la hiponatremia, que a largo plazo produciría discapacidad mental y problemas de aprendizaje.
- 3 La disminución del tiempo hasta la asignación correcta de sexo.

La detección se basa en la medición de la 17OHP en la muestra de sangre capilar obtenida del talón e impregnada en papel absorbente, extraída a las 48 h de vida. El procedimiento analítico utilizado es un inmunoanálisis por fluorescencia a tiempo retardado (AutoDelfia, PerkinElmer Life Sciences). Cada laboratorio deberá establecer sus puntos de corte, de acuerdo con su población diana, estratificando por semanas de gestación y sexo. En recién nacidos a término existen diferencias estadísticamente significativas en los niveles de 17OHP por sexo.

El manejo urgente de los casos de PS requiere de una Unidad Clínica de Seguimiento con pediatras expertos en esta enfermedad, así como una Unidad de Cuidados Intensivos donde pueda ingresar el neonato si lo requiere.

En España los estudios realizados de eficacia/efectividad² y coste/efectividad⁵ plantean evidencias

a favor de la implantación del cribado de HSC, y también dudas en su contra.

Las evidencias a favor del cribado son:

- 1 Se previene la crisis adrenal en las formas PS.
- 2 Se evita la asignación incorrecta de sexo.
- 3 La hiponatremia es menor en los casos detectados por cribado.
- 4 Se disminuye el tiempo de hospitalización.
- 5 El cribado de HSC es coste-efectivo para una disponibilidad a pagar de 30.000€/AVG (años de vida ganados).
- 6 Asumiendo una sensibilidad clínica para las formas PS en ausencia de cribado del 85%, se puede recomendar la inclusión de la HSC en los PCN de España.

Dudas respecto al cribado:

- 1 El periodo de latencia de la enfermedad requiere un tiempo de respuesta rápido. El PCN que incluya esta enfermedad en su cartera de servicios deberá cumplir los estándares de calidad y optimizar el tiempo de respuesta, de forma que la detección del caso se produzca a la semana de vida (7-8 días) para que el programa sea efectivo.
- 2 Puntos de corte y % de falsos positivos. El cumplimiento de los criterios de calidad incluye disponer de puntos de corte propios, establecidos por semanas de gestación y sexo, lo que permite disminuir el número de casos falsos positivos y aumentar el valor predictivo positivo de la prueba.

La tasa de mortalidad debida a crisis suprarrenales en pacientes no cribados oscila entre el 4 y el 11,9%⁶. La mayoría de los casos detectados por cribado se encuentran ya en su domicilio al diagnóstico, siendo los varones afectos los de mayor riesgo.

La detección precoz de HSC se recomienda internacionalmente con un nivel de evidencia 1/++⁷.

La HSC es una de las enfermedades candidatas a incorporar^{7,8} en los PCN. En España, las transferencias de las competencias en materia de Salud Pública a las CC. AA. permitieron a lo largo de los años la incorporación de nuevos programas de detección precoz que difieren en la oferta de las enfermedades a cribar. La Comunidad de Madrid incorporó a su PCN la detección precoz de HSC en 1990. Desde el inicio hasta diciembre de 2016 se han analizado 1.661.554 recién nacidos, habiéndose detectado 79 casos con HSC clásica (PS + VS), con una incidencia de la enfermedad de 1/21.032.

Actualmente (2017), en España el cribado de HSC se realiza en 6 CC. AA., cubriendo el 29,8% de los recién nacidos. La Asociación Española de Cribado Neonatal (AECNE)⁹ recoge en su página web la actividad de los Centros de Cribado Neonatal. Desde el inicio de la incorporación del cribado de HSC, hasta diciembre de 2016 (datos pendientes de subir a la web), se han analizado 3.086.015 recién nacidos con una incidencia estimada de las formas clásicas (PS + VS) de 1/21.732. Puede haber una cierta infraestimación ya que no se contabilizan los casos positivos que no presentan clínica neonatal (formas VS en varones, ver más adelante).

Aportaciones del genotipado CYP21A2 en el cribado neonatal de la hiperplasia suprarrenal congénita

El análisis genético es una herramienta de confirmación diagnóstica para las enfermedades monogénicas en que existe una fuerte correlación genotipo/fenotipo. Podrá además descartar la enfermedad si garantiza un alto rendimiento diagnóstico libre de datos de interpretación incierta (ver anexo 1 del material suplementario). Cuando se incorporó la HSC al cribado no se conocía exhaustivamente su base molecular; las alteraciones del gen *CYP21A2* (NM_000500) comenzaron a describirse a partir de 1990¹⁰, poniendo de manifiesto que un conjunto de alteraciones permitía caracterizar los alelos deficientes con buena relación genotipo/clínica, también en nuestra población¹¹. Frente a la determinación de 17OHP, que en el periodo perinatal se ve interferida por inmadurez suprarrenal, situaciones de estrés, etc., el genotipo es reconocido como dato de ayuda para el manejo de pacientes HSC, también en el contexto del cribado neonatal^{12,13}.

Aunque el marcador analizado es la 17OHP, se pueden detectar también otros déficits, incluso aquellos cuyas enzimas implicadas se sitúan por encima del metabolito. Encontramos al menos 8 casos en la literatura, el más reciente en 2016¹⁴. Esta capacidad es ventajosa porque facilita detectar otras formas raras de HSC, aunque está también poniendo de manifiesto que existen interferencias analíticas. Los falsos positivos en los inmunoanálisis directos son un hecho reconocido en las muestras perinatales^{15,16}.

Se considera que, en una enfermedad recesiva, el genotipo permitirá descartar la enfermedad en >95% de los casos si abarca, en la población analizada, no menos del 80% de las alteraciones causales (dos alelos a caracterizar, $0,2 \times 0,2 = 0,04$; <5% falsos negativos del genotipado). Se detectarán portadores que, no siendo afectados, serán positivos y los pacientes homocigotos para una alteración rara escaparán a este cálculo incrementando los falsos negativos. En comparación con el genotipado *CFTR* incluido en el propio cribado de la fibrosis quística, *CYP21A2* tiene la ventaja de que una batería limitada de alteraciones frecuentes (puntuales y delecciones) garantiza una cobertura superior (> 90%) y es menor la frecuencia de portadores. *CYP21A2* tiene en contra la complejidad del locus a analizar, una mala adaptabilidad a las técnicas de alto rendimiento y la necesidad de contar con una experiencia en este locus concreto^{15,17-22}. El locus *CYP21A2* incluye un pseudogén en el que preexisten la mayoría de las mutaciones causales y hay reordenamientos complejos en los alelos normales y mutados.

Un análisis dirigido a las alteraciones frecuentes *CYP21A2* validadas clínicamente aporta la ventaja de evitar la incertidumbre (polimorfismos y variantes raras de interpretación incierta) facilitando el descartar la enfermedad. Debe garantizarse la cobertura requerida, especialmente para mutaciones graves^{18,19,21} y una correcta caracterización de los alelos^{11,17-20} (ver anexo 2 del material suplementario).

La utilidad del análisis *CYP21A2* fue documentada²³ en el seguimiento de 76 casos positivos del cribado neonatal HSC de la Comunidad de Madrid; 43 pacientes en los que finalmente se descartó la enfermedad, y fueron etiquetados como elevaciones transitorias de 17OHP, habían resultado

negativos en el genotipado *CYP21A2*. La normalización de las determinaciones de 17OHP no se alcanzó hasta los 6 meses en un 50%, y en el resto, al año. De los 33 casos en que *CYP21A2* había sido positivo, 24 fueron pacientes con forma clásica, mientras que 9 eran también casos HSC, aunque «crípticos» en etapa neonatal (casos virilizantes en varones y formas no clásicas en ambos sexos); los genotipos habían clasificado correctamente a estos pacientes. En el conjunto de las muestras de casos positivos del cribado que hemos tenido ocasión de analizar hasta la fecha (176 casos de la Comunidad de Madrid y 41, hasta 2012, de otras CC. AA.) 47 fueron genotipos de forma clásica (16 VS) y 170 fueron negativos para forma clásica: 25 formas no clásicas y 145 negativos (6 portadores de alteración leve, 3 portadores de mutación grave²² y 6 presentaron el falso alelo severo con duplicación génica que incluye p.Gln319X²⁰).

El genotipo *CYP21A2* es notablemente informativo para la HSC y puede ser utilizado en los casos positivos del cribado neonatal (con o sin clínica) para descartar, confirmar y clasificar la enfermedad; sin embargo, es imprescindible disponer de un análisis e interpretación de expertos, dadas las especiales características del locus.

Anexo. Material adicional

Se puede consultar material adicional a este artículo en su versión electrónica disponible en [doi:10.1016/j.endinu.2017.11.001](https://doi.org/10.1016/j.endinu.2017.11.001)

Bibliografía

1. Spencer PW, Azziz R, Baskin LS, Ghizzoni L, Hensle TW, Merke DP, et al. Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21-hydroxylase deficiency: An Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:4133–60.
2. Paz-Valiñas L, Varela-Lema L, Atienza G. Cribado neonatal de la hiperplasia suprarrenal congénita. Revisión sistemática, Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías y Prestaciones del Sistema Nacional de Salud. Agencia de Avaluación de TecnoloXias Sanitarias de Galicia; 2014. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias.
3. Wilson JM, Junger G. Principles and practice of screening for disease. *Public Health Papers.* Núm. 34. World Health Organization. Geneva; 1968.
4. Nordenström A, Ahmed S, Jones J, Coleman M, Price DA, Clayton PE, et al. Female preponderance in congenital adrenal hyperplasia due to CYP21 deficiency in England: Implications for neonatal screening. *Horm Res.* 2005;63:22–8.
5. Castilla I, Vallejo-Torres L, Rica-Echevarría I, Rodríguez-Sánchez A, Dulín-Iñiguez E, Espada M, et al. Coste-efectividad del cribado neonatal de la hiperplasia suprarrenal congénita. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud; 2013. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias.
6. Grosse SD, van Vliet G. How many deaths can be prevented by newborn screening for congenital adrenal hyperplasia? *Horm Res.* 2007;67:284–9.
7. Rodríguez Arnao MD, Rodríguez Sánchez A, Dulín Iñiguez E. Detección precoz de alteraciones endocrinas. *Rev Esp Endocrinol Pediatr.* 2013;4 Suppl.:59–71.
8. Dulín Iñiguez E, Espada M, Eguileor Gurtubai I. Programas de Cribado Neonatal. *An Pediatr Contin.* 2006;4:61–5, [http://dx.doi.org/10.1016/S1696-2818\(06\)73590-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1696-2818(06)73590-9)

9. Asociación Española de Cribado Neonatal (AECNE). Datos acumulados de Programas de Cribado Neonatal en España, actualizado a diciembre de 2016. [consultado 30 Sep 2016]. Disponible en: <http://aecne.es/datos.html>
10. White PC, Speiser PW. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocr Rev.* 2000;21:245–91.
11. Ezquieta B, Oliver A, Gracia R, Gancedo PG. Analysis of steroid 21-hydroxylase gene mutations in the Spanish population. *Hum Genet.* 1995;96:198–204.
12. Nordenström A, Thilén A, Hagenfeldt L, Larsson A, Wedell A. Genotyping is a valuable diagnostic complement to neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:1505–9.
13. Therrell BL. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinol Metab Clin North.* 2001;30:15–30.
14. Levy-Shraga Y, Pinhas-Hamiel O. High 17-hydroxyprogesterone level in newborn screening test for congenital adrenal hyperplasia. *BMJ Case Rep.* 2016, published online Feb 24 2016.
15. Choi JH, Kim GH, Yoo HW. Recent advances in biochemical and molecular analysis of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Ann Pediatr Endocrinol Metab.* 2016;21:1–6.
16. Honour JW. 17-Hydroxyprogesterone in children, adolescents and adults. *Ann Clin Biochem.* 2014;51:424–40.
17. Kolahdouz M, Mohammadi Z, Kolahdouz P, Tajamolian M, Khanahmad H. Pitfalls in molecular diagnosis of 21-hydroxylase deficiency in congenital adrenal hyperplasia. *Adv Biomed Res.* 2015;4:189–98.
18. Santomé Collazo JL, Cirujano Segura A, Ferreiro Fernández B, Casado Fúnez C, Muñoz-Pacheco R, Ezquieta Zubicaray B. [Simple virilizing forms of congenital adrenal hyperplasia: adaptation and prospective validation of the molecular screening]. *Med Clin (Barc).* 2010;135:195–201.
19. Ezquieta B, Santomé L, Barrio R, Barrionuevo JL, López-Siguero JP, Oliver A, et al. Carrier detection and prenatal diagnosis of congenital adrenal hyperplasia must identify 'apparently mild' CYP21A2 alleles which associate neonatal salt-wasting disease. *Prenat Diagn.* 2010;30:758–63.
20. Ezquieta B, Beneyto M, Muñoz-Pacheco R, Barrio R, Oyarzabal M, Lechuga JL, et al. Gene duplications in 21-hydroxylase deficiency: The importance of accurate molecular diagnosis in carrier detection and prenatal diagnosis. *Prenat Diagn.* 2006;26:1172–8.
21. Ezquieta B, Oyarzábal M, Jariego CM, Varela JM, Chueca M. A novel frameshift mutation in the first exon of the 21-OH gene found in homozygosity in an apparently nonconsanguineous family. *Horm Res.* 1999;51:135–41.
22. Soriano Guillén L, Velázquez de Cuellar Paracchi M, Ezquieta B. [Usefulness of molecular analysis in the differential diagnosis of congenital 21-hydroxylase deficiency detected in neonatal screening]. *Med Clin (Barc).* 2011;136:313–4.
23. Huidobro Fernández B, Echeverría Fernández M, Dulín Iñiguez E, Ezquieta Zubicaray B, Roldán Martín MB, Rodríguez Arnao MD, et al. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia: Transitory elevation of 17-hydroxyprogesterone. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2011;24:155–62.