

Yolanda González Irazabal

Cribado neonatal de hiperplasia
suprarrenal congénita debida al
déficit de 21-hidroxilasa:
optimización, experiencia y
factores perinatales influyentes

Departamento
Farmacología y Fisiología

Director/es
Labarta Aizpún, José Ignacio
Escanero Marcén, Jesús Fernando

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>

© Universidad de Zaragoza
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606



Universidad
Zaragoza

Tesis Doctoral

**CRIBADO NEONATAL DE HIPERPLASIA
SUPRARRENAL CONGÉNITA DEBIDA AL
DÉFICIT DE 21-HIDROXILASA:
OPTIMIZACIÓN, EXPERIENCIA Y
FACTORES PERINATALES
INFLUYENTES**

Autor

Yolanda González Irazabal

Director/es

Labarta Aizpún, José Ignacio

Escanero Marcén, Jesús Fernando

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Farmacología y Fisiología

2015

CRIBADO NEONATAL DE LA HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA DEBIDA AL DÉFICIT DE 21-HIDROXILASA

**OPTIMIZACIÓN, EXPERIENCIA
Y FACTORES PERINATALES INFLUYENTES**



Yolanda González Irazabal

Directores:

Dr. D. Jose Ignacio Labarta Aizpún

Dr. D. Jesús Fernando Escanero Marcén

TESIS DOCTORAL

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA Y FISIOLOGÍA
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Facultad de Medicina

Departamento de Farmacología y Fisiología



Cribado neonatal de la Hiperplasia Suprarrenal Congénita debida al déficit de 21-hidroxilasa: optimización, experiencia y análisis de factores perinatales influyentes.

Tesis doctoral para optar al grado de doctora
en medicina por:

Yolanda González Irazabal

Bajo la dirección de los Doctores:
Dr. D. José Ignacio Labarta Aizpún
Dr. D. José Fernando Escanero Marcén

Zaragoza, 2015



UNIVERSIDAD
DE
ZARAGOZA

Departamento de
Farmacología y

D. Jesús Fernando Escanero Marcén, Catedrático de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza y D. José Ignacio Labarta Aizpún, Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad de Zaragoza y Jefe de Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Miguel Servet

HACEN CONSTAR:

Que D^a Yolanda González Irazabal, Licenciada en Ciencias Químicas por la Universidad de Oviedo y Licenciada en Bioquímica por la Universidad de Zaragoza ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo para la elaboración de su Tesis Doctoral. Dicha Tesis reúne todas y cada una de las características exigidas para un trabajo de esta naturaleza.

Por todo ello entendemos que la Tesis Doctoral titulada:

“Cribado neonatal de la Hiperplasia Suprarrenal Congénita debida al déficit de 21-hidroxilasa: optimización, experiencia y análisis de factores perinatales influyentes”

Puede ser presentada y defendida delante del Tribunal correspondiente que se nombre al efecto.

Y para que así conste, expedimos el presente documento en Zaragoza, a 1 de Julio de 2015.

Fdo: Dr. D. Jesús Escanero Marcén

Fdo: Dr. D. José Ignacio Labarta Aizpún

ABREVIATURAS

11 β OH	11 β -hidroxilasa
17 α OH	17 α -hidroxilasa
17OHP	17-hidroxiprogesterona
21OH	21-hidroxilasa
3 β HSD	3- β -hidroxiesteroide deshidrogenasa
ACTH	Hormona adrenocorticotropa
ARP	Actividad de renina plasmática
CBG	globulina fijadora de corticosteroides
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CMIA	inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas
CMO	corticosterona metiloxidasa
DELFI	Dissociation Enhanced Lanthanide Fluorescent Immunoassay
DHEA	Dehidroepiandrosterona
DHT	Dihidrotestosterona
ECA	enzima convertora de la angiotensina
EG	Edad Gestacional
ELISA	enzimoinmunoanálisis
F	femenino
FIA	fluoroimunoanálisis
FN	Falso negativo
FP	Falso positivo
FPcribado	falsos positivos normalizados en la segunda muestra de cribado
FSH	hormona foliculoestimulante

hCG	gonadotropina coriónica humana
HHS	eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal
hiper-17OHPemia	falsos positivos con hiper-17-hidroxiprogesteronemia transitoria
HSC	Hiperplasia Suprarrenal Congénita
HSCL	Hiperplasia Suprarrenal Congénita Lipoidea
K-S	Test de Kolmogorov Smirnov
K-W	Test de Kruskal-Wallis
LH	hormona luteinizante
LRA	límites de referencia bajos
LRB	límites de referencia bajos
M	masculino
M-W	U de Mann-Whitney
n	tamaño muestral
p.10	percentil 10
p.75	percentil 75
p.90	percentil 90
p.99	percentil 99
PEG	Pequeño para edad gestacional
PHF	pseudohermafroditismo femenino
PHM	pseudohermafroditismo masculino
POMC	pro-opiomelanocortina
RIA	radioinmunoanálisis
RIC	Rango intercuartílico
RN	Recién nacido
s	Escala de unidad

sd	desviación estándar
SDHEA	Dehidroepiandrosterona sulfato
SHBG	globulina fijadora de hormonas sexuales
SIL	Sistema informático de laboratorio
VG	Valor global
VN	Verdadero negativo
VP	Verdadero positivo
VPP	Valor predictivo positivo
VPN	Valor predictivo negativo

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. GLANDULA SUPRARRENAL.....	3
1.1.1. <i>Médula suprarrenal</i>	4
1.1.2. <i>Corteza suprarrenal</i>	4
1.2. ESTEROIDOGENESIS SUPRARRENAL.....	5
1.3. ETAPAS DE LA ESTEROIDOGÉNESIS SUPRARRENAL.....	9
1.3.1. <i>Transporte del colesterol al interior de la mitocondria</i>	9
1.3.2. <i>Escisión de la cadena lateral del colesterol y formación de esteroides C21</i>	10
1.3.3. <i>Formación de la progesterona</i>	10
1.3.4. <i>Biosíntesis de mineralocorticoides</i>	11
1.3.5. <i>Biosíntesis de glucocorticoides</i>	12
1.3.6. <i>Biosíntesis de andrógenos suprarrenales</i>	13
1.3.7. <i>Biosíntesis de estrógenos suprarrenales</i>	15
1.4. REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN HORMONAL SUPRARRENAL.....	16
1.4.1. <i>Regulación de la secreción de glucocorticoides</i>	17
1.4.2. <i>Regulación de la secreción de los mineralocorticoides</i>	18
1.4.3. <i>Regulación de la secreción de andrógenos suprarrenales</i>	21
1.5. TRANSPORTE DE ESTEROIDES SUPRARRENALES	21
1.6. CATABOLISMO Y EXCRECIÓN DE ESTEROIDES SUPRARRENALES.....	22
1.7. EFECTOS DE LOS ESTEROIDES SUPRARRENALES	23
1.8. ESTEROIDOGÉNESIS EN LA UNIDAD FETOPLACENTARIA.....	23
1.9. HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA.....	28
1.9.1. <i>Incidencia</i>	30
1.9.2. <i>Principales manifestaciones clínicas de la HSC</i>	31
1.10. DÉFICIT DE 21-HIDROXILASA	34
1.10.1. <i>Fisiopatología</i>	35
1.10.2. <i>Clínica</i>	37
1.10.3. <i>Diagnóstico</i>	40
1.10.4. <i>Tratamiento</i>	41
1.11. DÉFICIT DE 11B-HIDROXILASA.....	44
1.11.1. <i>Fisiopatología</i>	45
1.11.2. <i>Clínica</i>	46
1.11.3. <i>Diagnóstico</i>	47
1.11.4. <i>Tratamiento</i>	48
1.12. DÉFICIT DE 3 B-HIDROXIESTEROIDE DESHIDROGENASA	48

1.12.1.	<i>Fisiopatología</i>	49
1.12.2.	<i>Clínica</i>	50
1.12.3.	<i>Diagnóstico</i>	51
1.12.4.	<i>Tratamiento</i>	51
1.13.	HSC POR DÉFICIT DE 17A-HIDROXILASA.....	51
1.13.1.	<i>Fisiopatología</i>	52
1.13.2.	<i>Diagnóstico</i>	53
1.13.3.	<i>Tratamiento</i>	53
1.14.	DÉFICIT DE LA PROTEÍNA STAR: HSC LIPOIDEA	53
1.14.1.	<i>Fisiopatología</i>	54
1.14.2.	<i>Clínica</i>	55
1.14.3.	<i>Diagnóstico</i>	56
1.14.4.	<i>Tratamiento</i>	57
1.15.	CONCEPTO DE CRIBADO.....	57
1.15.1.	<i>Principios de los programas de cribado</i>	60
1.15.2.	<i>Cribado neonatal</i>	62
1.15.3.	<i>Principios de los programas de cribado neonatal</i>	63
1.15.4.	<i>Cribado neonatal de la HSC</i>	67
1.15.5.	<i>Prueba analítica del cribado neonatal de HSC</i>	69
1.16.	ESTADO DE LA CUESTIÓN	70
1.17.	HIPÓTESIS DEL ESTUDIO.....	72
1.18.	OBJETIVOS.....	72
1.18.1.	<i>Objetivo principal</i>	72
1.18.2.	<i>Objetivos específicos</i>	72
2.	MATERIAL Y MÉTODOS	75
2.1.	DISEÑO	77
2.2.	MATERIAL Y MÉTODOS	77
2.2.1.	<i>Programa de Cribado neonatal de la comunidad de Aragón</i>	77
2.2.2.	<i>Población de estudio</i>	78
2.2.3.	<i>VARIABLES del estudio</i>	79
2.2.4.	<i>Muestras</i>	83
2.2.5.	<i>Recogida de datos</i>	86
2.2.6.	<i>Análisis de datos</i>	86
2.2.7.	<i>Definiciones</i>	87
3.	RESULTADOS	89
3.1.	INCIDENCIA.....	91
3.2.	CASUÍSTICA.....	92

3.3. OPTIMIZACIÓN DE LOS PUNTOS DE CORTE DE 17OHP PARA EL CRIBADO NEONATAL DE HSC.....	104
3.3.1. Niveles de 17OHP en RN pequeños para la EG (PEG).	114
3.3.2. Influencia de la edad a la extracción de la muestra y el sexo en los niveles de 17OHP.....	117
3.4. VALIDACIÓN DE LA NUEVA ESTRATEGIA DEL PROGRAMA DE CRIBADO NEONATAL UTILIZANDO PUNTOS DE CORTE DE 17OHP EN FUNCIÓN DE EG.....	121
3.5. ADAPTACIÓN DEL MÉTODO DE TRABAJO A UN CAMBIO DEL ANTICUERPO INVOLUCRADO EN LA REACCIÓN DE CUANTIFICACIÓN DE 17OHP	125
3.6. CÁLCULO DE LOS PUNTOS DE CORTE DEFINITIVOS DE 17OHP CUANTIFICADA CON EL NUEVO ANTICUERPO DE REACCIÓN	128
3.7. DESCRIPCIÓN Y EVALUACIÓN DEL PROGRAMA ACTUAL DE CRIBADO NEONATAL PARA HSC	129
3.8. ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN DE LOS NIVELES DE 17OHP Y OTRAS ESPECIES RELACIONADAS DEPENDIENDO DE LA PATOLOGÍA DEL RN	132
3.9. DETECCIÓN Y ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DE FACTORES PERINATALES EN LOS VALORES ANORMALMENTE ELEVADOS DE 17OHP.	136
3.10. ESTUDIO DEL EFECTO DEL TRATAMIENTO PRENATAL MATERNO CON CORTICOIDES EN LOS NIVELES DE 17OHP	154
4. DISCUSIÓN	164
4.1. METODOLOGÍA DEL ESTUDIO	166
4.2. INCIDENCIA.....	167
4.3. OPTIMIZACIÓN DEL PROGRAMA DE CRIBADO NEONATAL DE HSC	172
4.4. EFICACIA DIAGNÓSTICA DEL PROGRAMA DE CRIBADO NEONATAL DE HSC.....	179
4.5. OBJETIVO DIAGNÓSTICO DEL PROGRAMA DE CRIBADO NEONATAL DE HSC	184
4.6. EVALUACIÓN DEL PROGRAMA DE CRIBADO NEONATAL DE HSC	185
4.7. EVOLUCIÓN DE LOS NIVELES DE 17OHP Y OTROS ANALITOS RELACIONADOS EN FUNCIÓN DE LA PATOLOGÍA DEL RN	187
4.8. FACTORES PERINATALES QUE INFLUYEN EN LOS NIVELES DE 17OHP	189
4.9. EFECTO DEL TRATAMIENTO PRENATAL CON CORTICOIDES EN LOS NIVELES DE 17OHP.....	195
4.10. COMENTARIO FINAL.....	198
5. CONCLUSIONES	200
6. BIBLIOGRAFÍA	204

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Glándulas suprarrenales.....	3
Figura 2. Capas de la glándula suprarrenal.	3
Figura 4. Esteroidogénesis suprarrenal.....	7
Figura 5. Compartimentalización celular de la esteroidogénesis suprarrenal.....	8
Figura 6. Escisión de la cadena lateral del colesterol y formación de pregnenolona.....	10
Figura 7. Transformación de pregnenolona en progesterona.	11
Figura 8. Biosíntesis de mineralocorticoides.....	11
Figura 9. Biosíntesis de glucocorticoides.....	12
Figura 10. Síntesis de andrógenos.....	14
Figura 11. Biosíntesis de estrógenos.	16
Figura 12. Sistema renina-angiotensina.....	20
Figura 13. Esteroidogénesis fetoplacentaria.....	25
Figura 14. Esteroidogénesis suprarrenal.....	29
Figura 15. Grados de virilización genital.	34
Figura 16. Bloqueo enzimático 21OH.....	35
Figura 17. Bloqueo enzimático de 11 β -hidroxilasa.	44
Figura 18. Bloqueo enzimático de 3 β -HSD.....	49
Figura 19. Bloqueo enzimático de 17 α -hidroxilasa.....	52
Figura 20. Bloqueo de StAR.....	54
Figura 21. Evolución natural de la enfermedad	58
Figura 22. Tiempo anticipado de una enfermedad al detectarla a través de un programa de cribado.	59
Figura 23. Reacción de cuantificación de 17OHP.....	85
Figura 24. Distribución de niveles de 17OHP para RN prematuros y a término.	106
Figura 25. Distribución de niveles de 17OHP en función de peso y EG.....	106
Figura 26. Dispersión peso vs EG.....	107
Figura 28. Dispersión de niveles de 17OHP en función de los grupos de EG.	112
Figura 29. Dispersión de niveles de 17OHP en función de los grupos de peso.....	113
Figura 30. Percentiles 10, 50 y 90 de peso para cada EG.....	115
Figura 31. Distribución de niveles de 17OHP en función de EG para RN PEG y no PEG.....	116
Figura 32. Distribución de niveles de 17OHP en función del peso para RN PEG y no PEG.....	116
Figura 33. Dispersión de los niveles de 17OHP en función de la edad a la extracción.....	118
Figura 34. Dispersión de los niveles de 17OHP en función del sexo.	120
Figura 35. Distribución de los niveles de 17OHP en las poblaciones pre-término y a término.....	122

Figura 36. Tasa de FP basados en los puntos de corte propuestos por la bibliografía.....	122
Figura 37. Tasa de FP aplicando los puntos de corte propuestos por la bibliografía en función de EG.	123
Figura 38. Puntos de corte de 17OHP en función de EG.	124
Figura 39. Tasa de FP aplicando los puntos de corte optimizados en función de EG.....	124
Figura 40. Regresión lineal entre los niveles de 17OHP obtenidos con ambos anticuerpos.....	127
Figura 41. Dispersión de los niveles de 17OHP obtenidos con el nuevo anticuerpo en función de EG.	129
Figura 42. Niveles de 17OHP según el diagnóstico del RN.	133
Figura 43. Medidas sucesivas de analitos de la esteroidogénesis suprarrenal.	134
Figura 44. Distribución de niveles de 17OHP.	139
Figura 45. Presencia de distintos factores neonatales en función de los niveles de 17OHP.....	147
Figura 46. Presencia de otros factores perinatales en función de los niveles de 17OHP.....	150
Figura 47. Presencia de otros factores perinatales en función de los niveles de 17OHP.....	153
Figura 48. Dispersión de niveles de 17OHP para RN tratados y no tratados en cada EG.....	157
Figura 49. Dispersión de niveles de 17OHP tipificada para RN tratados y no tratados.....	157
Figura 50. Dispersión de niveles de 17OHP en función de la dosis de corticoides para cada EG.	159
Figura 51. Dispersión de niveles de 17OHP tipificada en función de la dosis de corticoides....	159
Figura 52. Dispersión de niveles de 17OHP en función de los días desde la última dosis de corticoide hasta el parto para cada EG.....	161
Figura 53. Dispersión de niveles de 17OHP tipificada en función de los días desde la última dosis de corticoide hasta el parto.	162

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Efectos de la angiotensina II en diferentes tejidos del organismo.	20
Tabla 2. Enzimas catabólicas de inactivación de esteroides.	22
Tabla 3. Metabolitos de excreción de hormonas esteroideas.	22
Tabla 4. Efectos de los esteroides suprarrenales.	23
Tabla 5. Características generales de los distintos tipos de HSC.	29
Tabla 6. Incidencia de HSC en distintos países.	31
Tabla 7. Manifestaciones clínicas de los distintos tipos de HSC.	31
Tabla 8. Diferencias entre las formas clásica y no clásica de HSC debida a déficit de 21OH.	37
Tabla 9. Daños posibles ante un programa de cribado.	60
Tabla 10. Requisitos para un programa de cribado por Wilson y Jungner.	60
Tabla 11. Requisitos para un programa de cribado por Comité Nacional de Cribado del Reino Unido.	61
Tabla 12. Beneficios y riesgos de un programa de cribado neonatal.	65
Tabla 13. Descriptivos de las variables cuantitativas la población de RN cribados para HSC.	78
Tabla 14. Descriptivos de la variable cualitativa de la población de RN cribados para HSC.	79
Tabla 15. Factores maternos y del parto.	80
Tabla 16. Factores fetales.	81
Tabla 17. Factores neonatales.	81
Tabla 18. Otros factores perinatales.	83
Tabla 19. Caso 1.	93
Tabla 20. Caso 2.	96
Tabla 21. Caso 3.	97
Tabla 22. Caso 4.	98
Tabla 23. Caso 5.	94
Tabla 24. Caso 6.	99
Tabla 25. Caso 7.	100
Tabla 26. Caso 8.	92
Tabla 27. Caso 9.	93
Tabla 28. Caso 10.	101
Tabla 29. Caso 11.	102
Tabla 30. Descriptivos de las variables cuantitativas de la Población 1.	104
Tabla 31. Descriptivos de las variables cuantitativas de la Población 2.	105
Tabla 32. Descriptivos de la variable cualitativa sexo.	105
Tabla 33. Distribución de niveles de 17OHP para RN prematuros y a término.	105
Tabla 34. Test K-W para la 17OHP en función de.	109

Tabla 35. Criterio Lathi para la obtención de los subgrupos definitivos de peso y EG.....	111
Tabla 36. Subgrupos definidos de peso y EG.....	112
Tabla 37. Percentil 99 de 17OHP en función de EG.....	113
Tabla 38. Percentil 99 de 17OHP en función del peso	113
Tabla 39. Eficacia diagnóstica del cribado de HSC según peso y EG.....	114
Tabla 40. Cálculo del P.10 de peso para cada EG para la identificación de los RN PEG.	115
Tabla 41. Diferencias significativas en los niveles de 17OHP en función de EG para RN PEG y no PEG.	117
Tabla 42. Diferencias significativas en los niveles de 17OHP en función del peso para RN PEG y no PEG.	117
Tabla 43. Estudio de la existencia de diferencias significativas en niveles de 17OHP en función de la edad a la extracción.	119
Tabla 44. Estudio de la existencia de diferencias significativas en niveles de 17OHP en función del sexo.	120
Tabla 45. Tasa de FP basados en los puntos de corte propuestos por la bibliografía.	122
Tabla 46. Reducción del % de FP.	125
Tabla 47. Eficacia diagnóstica del cribado neonatal de HSC según los puntos de corte.	125
Tabla 48. Descriptivos de la variable 17OHP según el anticuerpo utilizado en el análisis.	126
Tabla 49. Estudio de correlación de niveles de 17OHP entre anticuerpos.....	126
Tabla 50. Puntos de corte para el nuevo anticuerpo utilizando la recta de regresión.....	128
Tabla 51. Descriptivos de las variables cuantitativas de la población del estudio.	128
Tabla 52. Puntos de corte de 17OHP para el nuevo anticuerpo.	129
Tabla 53. Indicadores de calidad pre y post-analíticos del programa de cribado neonatal.	130
Tabla 54. RN que necesitan nueva extracción para confirmar resultado dudoso y RN derivados a pediatría por prueba de cribado neonatal alterada.....	131
Tabla 55. Edad a la extracción y niveles de 17OHP en primera extracción y repetición.	131
Tabla 56. Eficacia diagnóstica actual del cribado neonatal para HSC.....	132
Tabla 57. Niveles de 17OHP en función de la patología del RN y la muestra.....	132
Tabla 58. Medidas sucesivas de analitos de la esteroidogénesis suprarrenal.	134
Tabla 59. Diferencias significativas entre patologías del RN en cada medida.....	135
Tabla 60. Descriptivos de las variables cuantitativas.	136
Tabla 61. Descriptivos de los factores maternos y del parto.	137
Tabla 62. Descriptivos de los factores fetales	137
Tabla 63. Descriptivos de los factores neonatales	137
Tabla 64. Descriptivos de otros factores perinatales.	137
Tabla 65. Percentiles 75 y 90 de 17OHP para cada grupo de EG.	138
Tabla 66. Descriptivos de los grupos que van a ser comparados en función de la concentración de 17OHP.....	139
Tabla 67. Recuento de los factores maternos y del parto.....	140

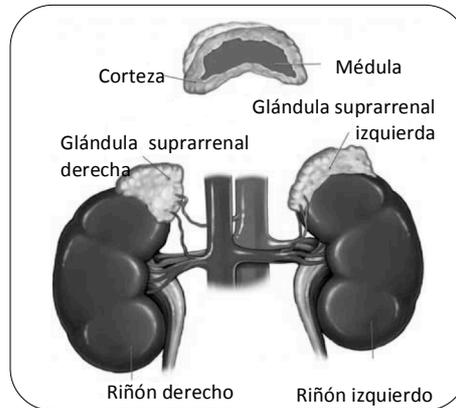
Tabla 68. Estudio estadístico para los factores maternos y del parto.....	141
Tabla 69. Recuento de los factores maternos y del parto en función de la concentración de 17OHP detallado.	142
Tabla 70. Estudio estadístico para los factores maternos y del parto.....	144
Tabla 71. Recuento de los factores fetales en función de la concentración de 17OHP.	145
Tabla 72. Estudio estadístico para los factores fetales.	145
Tabla 73. Recuento de los factores neonatales.	146
Tabla 74. Estudio estadístico para los factores neonatales.	147
Tabla 75. Recuento de otros factores perinatales en función de la concentración de 17OHP.	148
Tabla 76. Estudio estadístico para otros factores perinatales.	150
Tabla 77. Estudio estadístico para otros factores perinatales detallado.	151
Tabla 78. Factores que provocan elevación de niveles de 17OHP.	153
Tabla 79. Descriptivos de las variables cuantitativas de la población de estudio.	154
Tabla 80. Tamaño de la población de estudio en cada grupo de EG.....	155
Tabla 81. Dosis de corticoides y porcentajes.	155
Tabla 82. Media y desviación típica de 17OHP para cada grupo de EG.	156
Tabla 83. Recuento de RN tratados y no tratados con corticoides prenatalmente.	156
Tabla 84. Estudio estadístico de la influencia del tratamiento con corticoides en niveles de 17OHP.	158
Tabla 85. Recuento de RN en función del número de dosis administradas.	158
Tabla 86. Estudio estadístico de la influencia del número de dosis de corticoide en los niveles de 17OHP.	160
Tabla 87. Recuento de RN en función de los días transcurridos desde la última dosis hasta el nacimiento.....	160
Tabla 88. Estudio estadístico de la influencia de los días transcurridos desde la última dosis de corticoide hasta el parto en los niveles de 17OHP.	162
Tabla 89. Sensibilidad, especificidad y valores predictivos.	179
Tabla 90. Objetivos de calidad y criterios para el laboratorio de cribado neonatal.....	186

1. INTRODUCCIÓN

1.1. GLANDULA SUPRARRENAL

Las glándulas suprarrenales son un órgano par, situado sobre el polo superior del riñón, de forma triangular, generalmente rodeadas por tejido graso¹.

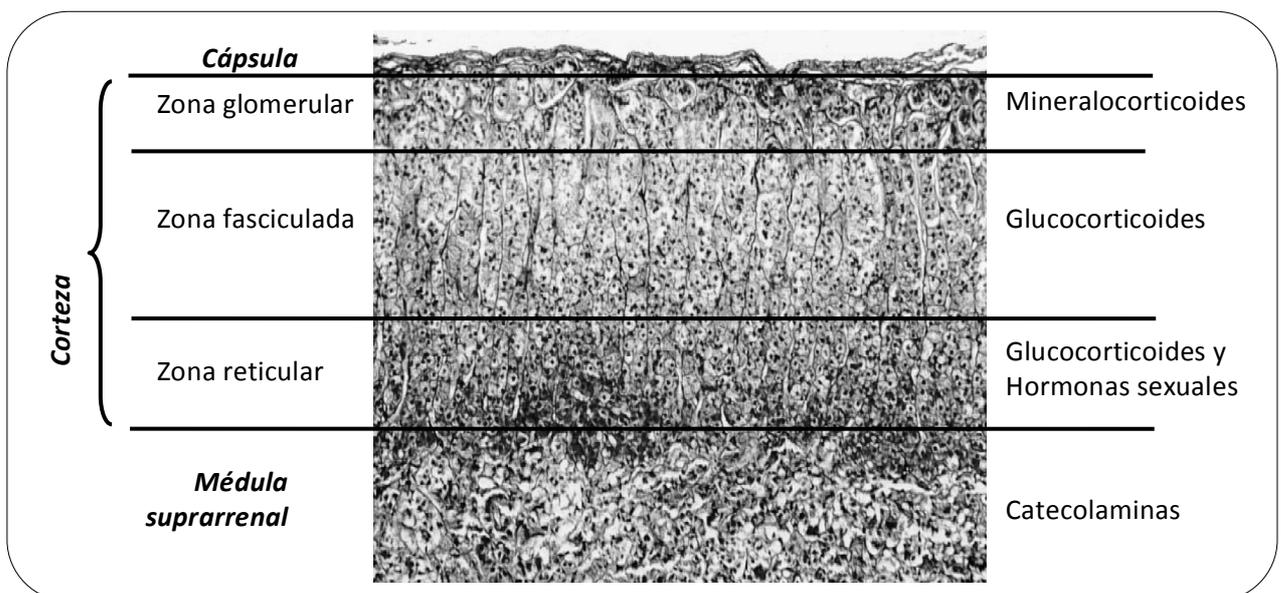
Figura 1. Glándulas suprarrenales.



En una sección en fresco del órgano se observa que está encapsulado y dividido claramente en dos capas concéntricas, una periférica de color amarillo, llamada corteza suprarrenal, y una central grisácea, la médula suprarrenal.

Estas dos capas pueden considerarse dos órganos distintos, de orígenes embriológicos diferentes y sólo unidos topográficamente.

Figura 2. Capas de la glándula suprarrenal.



La **cápsula** que recubre la glándula es de tejido conectivo.

La **corteza** procede del epitelio celómico y, por tanto, son células mesodérmicas que tienen un origen común con las células esteroidogénicas gonadales por lo que comparten diversas enzimas, mientras que la **médula** se origina en las células de la cresta neural y tiene un origen neuroectodérmico.

Las diferencias morfológicas entre corteza y médula suprarrenal se corresponden con distintas actividades funcionales: la corteza está encargada de la secreción de hormonas esteroideas, los llamados corticoides suprarrenales, mientras la médula elabora y segrega las catecolaminas.

1.1.1. Médula suprarrenal

La médula suprarrenal forma parte del sistema nervioso simpático. Las células que componen la médula suprarrenal, denominadas células cromafinas, están inervadas por fibras simpáticas preganglionares del sistema nervioso autónomo, de modo que cuando se activa el sistema nervioso simpático, como ocurre en caso de estrés, segregan unas hormonas, las catecolaminas.

Estas hormonas ayudan al organismo a prepararse para combatir el estrés. Cuando este se produce, los impulsos recibidos por el hipotálamo son transmitidos a las neuronas simpáticas pregangliónicas que estimulan las células cromafinas para que produzcan catecolaminas, que aumentan la presión arterial, aceleran la frecuencia cardíaca y la respiración, aumentan la eficiencia de la contracción muscular, aumentan los niveles de azúcar en la sangre y facilitan el flujo de sangre a los músculos y cerebro.

1.1.2. Corteza suprarrenal

La corteza suprarrenal está situada rodeando la glándula suprarrenal. Su función es la de regular varios componentes del metabolismo con la producción de mineralocorticoides y glucocorticoides, como la aldosterona y cortisol. La corteza suprarrenal también es un lugar secundario de síntesis de andrógenos.

Consta de tres zonas dispuestas de forma concéntrica: glomerular, fascicular y reticular.

- **Zona glomerular:** Es la zona externa situada debajo de la cápsula, es la más estrecha, ocupa del 5 al 10% de la corteza. En esta zona se segregan mineralocorticoides, como la aldosterona y la desoxicorticosterona. Está regulada por el eje renina-angiotensina¹⁻³.
- **Zona fascicular:** Zona intermedia, es la más extensa, aquí se segregan glucocorticoides como el cortisol y la cortisona ante el estímulo de la hormona adrenocorticotropica (ACTH). La ACTH es producida por la hipófisis en respuesta al Factor Hipotalámico estimulante de Corticotropina (CRH) del hipotálamo. Estos tres órganos del sistema endocrino forman el eje hipotálamo-hipofisario-suprarrenal (HHS).^{1,2}.
- **Zona reticular:** La más interna, en contacto directo con la médula, se encarga de segregar esteroides sexuales como estrógenos y andrógenos. Las células de la zona reticular constituyen una fuente secundaria de estas hormonas. También se encuentra regulada por el eje CRH-ACTH.

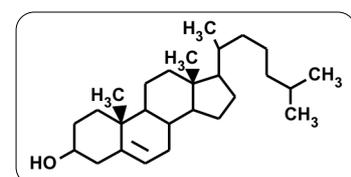
En realidad, las zonas fascicular y reticular constituyen una unidad funcional que produce cortisol y andrógenos y son reguladas por la ACTH^{1,2}. Aunque en ambas zonas se expresan las enzimas necesarias para la biosíntesis de glucocorticoides y andrógenos, parece que los andrógenos se sintetizan fundamentalmente en la zona reticular, que contiene la sulfotransferasa, enzima necesaria para la síntesis de dehidroepiandrosterona sulfato (DHEAS), uno de los principales andrógenos suprarrenales⁴.

Las hormonas segregadas por cada capa son química y funcionalmente distintas entre sí. Se cree que las diferencias funcionales entre las tres zonas puedan estar reguladas por factores locales tales como vascularización, inervación y posibles interacciones con proteínas de la matriz extracelular.

1.2. ESTEROIDOGENESIS SUPRARRENAL

El compuesto inicial en la biosíntesis de todas las hormonas esteroideas es el ***colesterol***, motivo por el que comparten en su estructura el tetraanillo de diecisiete átomos de carbono denominado

Figura 3. Colesterol.



ciclopentanoperhidrofenantreno.

Las glándulas suprarrenales disponen de tres vías para obtener colesterol:

- la **ingesta dietética**, este colesterol viaja por el torrente sanguíneo en las lipoproteínas plasmáticas. Las células suprarrenales poseen receptores de membrana para las lipoproteínas LDL^{5,6} que internalizan, y en los lisosomas los ésteres de colesterol son hidrolizados generando el colesterol libre. Esta vía es la más importante proporcionando el 80% de colesterol utilizado para la esteroidogénesis
- movilización de la **reserva intracelular** de ésteres de colesterol,
- **síntesis de novo** en la propia glándula a partir de Acetil CoA^{7,8}.

La **Figura 4** muestra las distintas etapas de la esteroidogénesis suprarrenal.

La división en tres rutas distintas (glucocorticoides, mineralocorticoides y hormonas sexuales) refleja las diferencias en la función y regulación de cada zona de la glándula suprarrenal y ayuda a interpretar las consecuencias clínicas de las enfermedades metabólicas de la síntesis de esteroides.

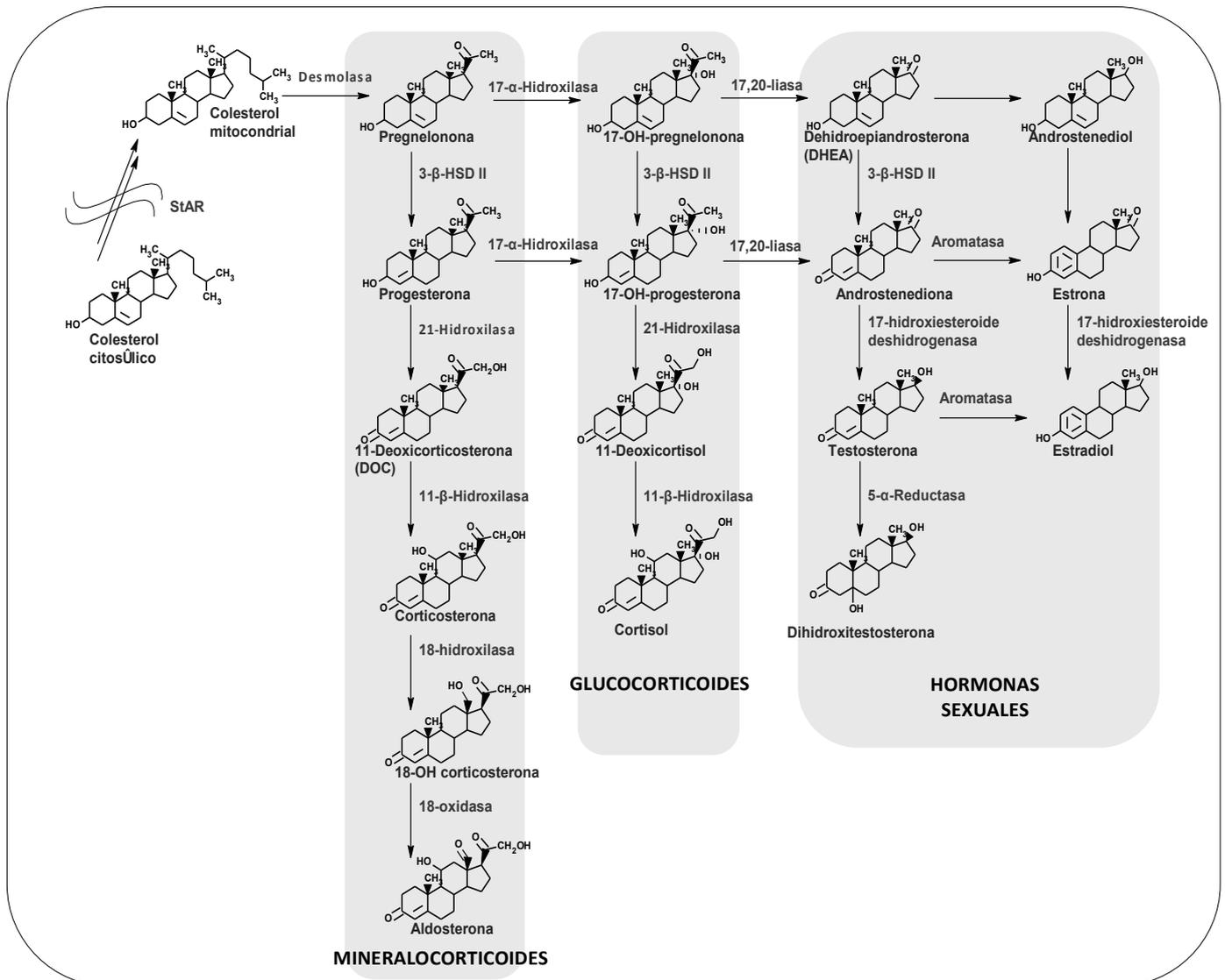
La mayor parte de las enzimas esteroidogénicas son oxidasas del grupo citocromo P450, cinco de las cuales se encuentran en la suprarrenal:

- 20,22-desmolasa,
- 17 α -hidroxilasa (17 α OH) (con actividades 17 α -hidroxilasa y 17,20-liasa),
- 21-hidroxilasa (21OH),
- 11 β -hidroxilasa (11 β OH) y
- Aldosintetasa (con actividades 18-hidroxilasa y 18-oxidasa).

Las enzimas 21OH, 11 β OH y aldosisintetasa son exclusivas de la suprarrenal; y las enzimas 20,22-desmolasa y 17 α OH se encuentran también en las gónadas.

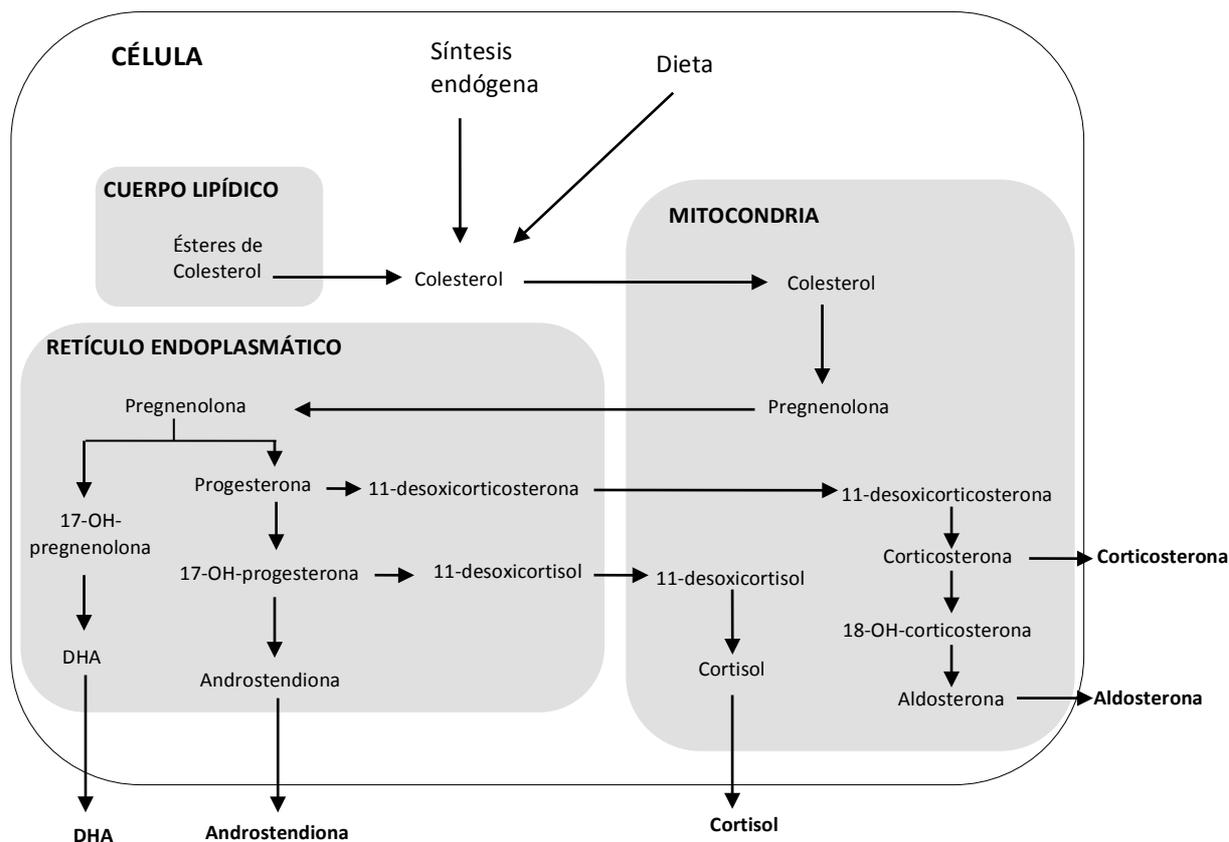
Una de las enzimas esteroidogénicas pertenece al grupo de las hidroxisteroides deshidrogenasas (HSD), la 3 β -HSD, que posee dos isoenzimas, la tipo II se encuentra en la suprarrenal, la otra se localiza en las gónadas⁹⁻¹³.

Figura 4. Esteroidogénesis suprarrenal.



La organización de las enzimas catalizadoras de la esteroidogénesis suprarrenal dentro de la célula es la responsable de que la producción de hormonas esteroideas necesite la coordinación de los sistemas enzimáticos mitocondrial y del retículo endoplasmático. Esta organización dentro de la célula contribuye también a la regulación de la síntesis de esteroides.

Figura 5. Compartimentalización celular de la esteroidogénesis suprarrenal.



El colesterol se transporta a la mitocondria mediante la proteína StRA, en este punto se inicia la esteroidogénesis con la conversión del colesterol en pregnenolona por acción de la 20,22-desmolasa.

La pregnenolona tiene las siguientes alternativas:

En la **zona glomerular** no existe la enzima $17\alpha\text{OH}$, por lo tanto actúa la enzima 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa ($3\beta\text{HSD}$) y se activa la vía de la síntesis de la aldosterona: la 21OH convierte la progesterona en desoxicorticosterona y ésta es transformada en aldosterona por la aldosintetasa (que asegura las 3 últimas etapas de la biosíntesis de la aldosterona), enzima regulada por el sistema renina-angiotensina.

En la **zona fasciculada** existe la enzima $17\alpha\text{OH}$, con predominio de su actividad $17\alpha\text{OH}$, sintetizándose los precursores del cortisol: 17-OH-pregnenolona y 17-OH-progesterona (17OHP). La 21OH transforma la 17OHP en 11-desoxicortisol, el cual es

convertido en cortisol por la $11\beta\text{OH}$; esta enzima, regulada por la ACTH, también transforma la desoxicorticosterona en corticosterona.

En la **zona reticular** predomina la actividad 17,20-liasa de la enzima $17\alpha\text{OH}$, sintetizándose los precursores androgénicos androstendiona, dehidroepiandrosterona (DHEA) y también su sulfato, DHEAS. En la suprarrenal también se sintetiza testosterona, aunque en su mayor parte se origina por conversión periférica; es el andrógeno más activo y se transforma localmente en dihidrotestosterona (DHT) por acción de la 5α -reductasa^{11,14}.

1.3. ETAPAS DE LA ESTEROIDOGÉNESIS SUPRARRENAL

1.3.1. Transporte del colesterol al interior de la mitocondria

Ésta es la primera etapa limitante en la esteroidogénesis suprarrenal, el colesterol debe pasar a la membrana interna mitocondrial dónde está situado el sistema de escisión de la cadena lateral del colesterol.

El efecto de todas las hormonas capaces de estimular de forma aguda la producción de esteroides en las suprarrenales y gónadas, es aumentar el transporte del colesterol desde la membrana externa a la membrana interna de la mitocondria. La hormona actuaría estimulando la síntesis de una o varias proteínas encargadas de este transporte.

El responsable de esta transferencia es un proteína denominada StAR (Steroid Acute Regulatory Protein)¹⁵. Se ha demostrado que StAR es imprescindible para el desarrollo de la esteroidogénesis suprarrenal y gonadal ya que mutaciones en el gen que codifica esta proteína provocan la llamada hiperplasia suprarrenal lipoidea¹⁶⁻¹⁹.

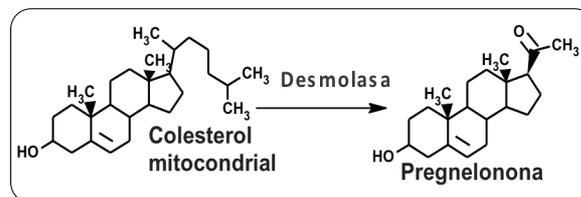
Sin embargo esta proteína no está expresada en otros tejidos esteroidogénicos como la placenta y el sistema nervioso central, sugiriendo que otros mecanismos están implicados en el transporte del colesterol a las mitocondrias en estos tejidos, se cree que puede ser el receptor periférico de las benzodiazepinas y su ligando endógeno endocepina^{6,8}.

1.3.2. Escisión de la cadena lateral del colesterol y formación de esteroides C21

Esta etapa está mediada por la enzima **colesterol desmolasa** que interviene en tres reacciones químicas que permiten la transformación de colesterol en pregnenolona:

- 20- α -hidroxilación,
- 22-hidroxilación y
- Corte de la cadena lateral en posición 20-22.

Figura 6. Escisión de la cadena lateral del colesterol y formación de pregnenolona.



Las dos hidroxilaciones producen la aparición de funciones alcohol a nivel de los átomos de carbono 22 y 20. Las dos reacciones ocurren de forma sucesiva, formándose primero la función alcohol en el átomo de carbono 22 y después en el carbono 20.

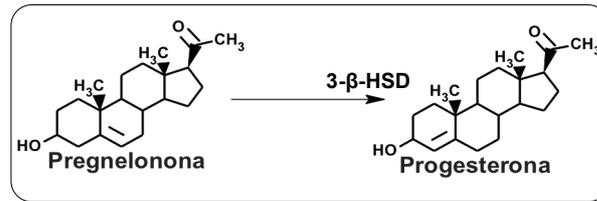
A continuación, por acción sucesiva de la actividad 22-deshidrogenasa y 20,22-desmolasa de la enzima, se rompe la cadena lateral entre los átomos de carbono 22 y 20 generando la pregnenolona. Esta secuencia de reacciones mitocondriales son comunes para todas las reacciones de síntesis de hormonas esteroideas adrenales en los mamíferos, motivo por el que a la pregnenolona se le ha denominado “esteroide pivote”.

La pregnenolona sale de la mitocondria pasando al retículo endoplasmático donde prosiguen las reacciones que conducen a la biosíntesis de los demás corticoides suprarrenales⁸.

1.3.3. Formación de la progesterona

La **progesterona** se forma en el retículo endoplasmático a partir de la pregnenolona por la acción del sistema enzimático **3 β HSD II**²⁰ con dos actividades:

- 3 β -hidroxideshidrogenasa y
- Δ 5, Δ 4-isomerasa.

Figura 7. Transformación de pregnenolona en progesterona.

En esta etapa se produce la reducción de un grupo 3β-hidroxilo a 3-cetona y la isomerización de un doble enlace 5,6 a 3,4.

Esta transformación de pregnenolona a progesterona es el punto de partida de otras enzimas específicas que catalizan las secuencias de reacciones que llevan a la síntesis de los diversos corticoides que se forman en las glándulas suprarrenales:

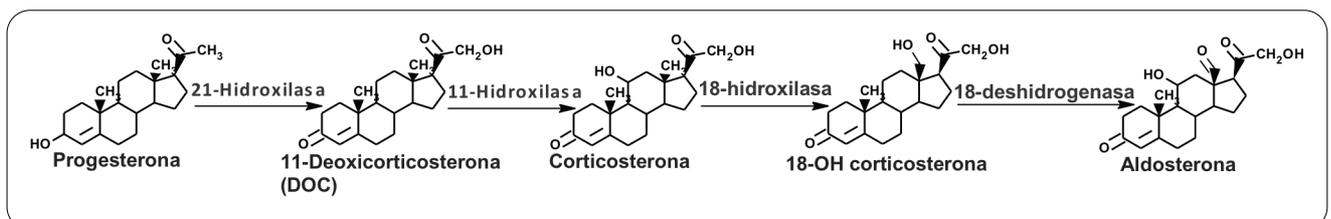
- Mineralocorticoides,
- Glucocorticoides,
- Andrógenos y
- Estrógenos.

1.3.4. Biosíntesis de mineralocorticoides

Como mineralocorticoide más importante está la *aldosterona*.

Las enzimas que participan en la transformación de progesterona a aldosterona son:

- 21OH,
- 11-β-hidroxilasa,
- 18-hidroxilasa y
- 18-deshidrogenasa.

Figura 8. Biosíntesis de mineralocorticoides.

La acción de la **21OH** consiste en la transformación de la progesterona en un factor que ya posee actividad mineralocorticoide: *11-deoxicorticosterona (DOC)*. Es el compuesto, después de la aldosterona, que mayor poder mineralocorticoide posee.

La siguiente enzima que actúa es la **11- β -hidroxilasa**. La DOC formada en el citosol celular pasa al interior de la mitocondria donde, por la acción de esta enzima, se transforma en corticosterona, la cual en una reacción catalizada por la **18-hidroxilasa** pasa a 18-hidroxicorticosterona. La **18-deshidrogenasa** cataliza el último paso de la síntesis de la aldosterona.

Las tres enzimas: 11-hidroxilasa, 18-hidroxilasa y 18-deshidrogenasa son enzimas intramitocondriales codificadas por un único gen que actúa exclusivamente en la zona glomerular formando un complejo denominado **aldosintetasa**⁸.

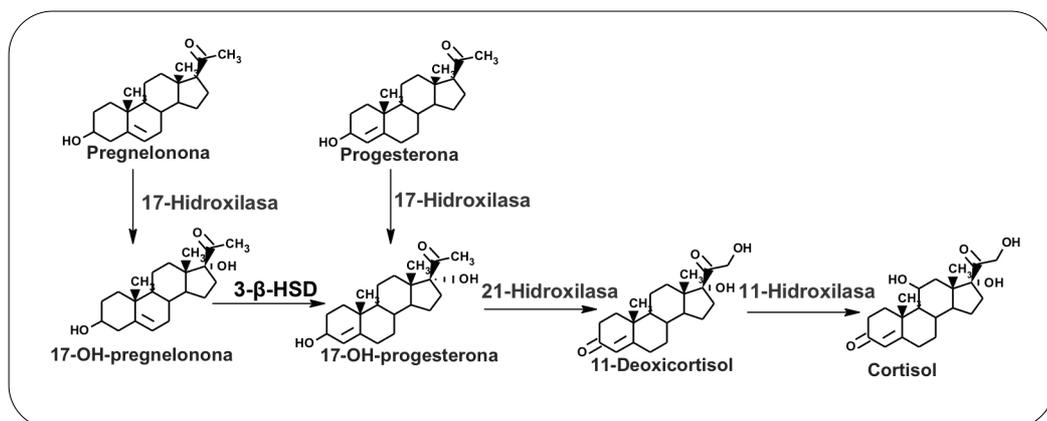
1.3.5. Biosíntesis de glucocorticoides

La biosíntesis del cortisol, la hormona glucocorticoide por excelencia, ocurre en la capa fasciculada de las glándulas suprarrenales.

Se producen tres hidroxilaciones sucesivas catalizadas por las enzimas:

- 17 α OH,
- 21OH y
- 11 β OH.

Figura 9. Biosíntesis de glucocorticoides.



Cuando actúa en primer lugar la enzima 17 α OH, como ocurre preferentemente en la capa fascicular, la vía activa lleva a la síntesis del cortisol, pero cuando la ruta

biosintética se inicia con la 21OH, así ocurre en la capa glomerular, la sucesión de reacciones lleva, como ya se ha visto, a la síntesis de aldosterona.

La hidroxilación inicial puede darse tanto sobre la progesterona como sobre la pregnenolona. Las dos hidroxilaciones iniciales son rápidas y se producen en el retículo endoplasmático, en cambio la hidroxilación sobre el carbono 11 tiene lugar en la mitocondria.

Por acción de la enzima **17 α OH** sobre la pregnenolona se forma 17- α -hidroxipregnenolona²¹, que, actuando sobre ella la **3- β -HSD II**, se transforma en 17OHP. Cuando la 17 α OH actúa sobre la progesterona genera directamente la formación de 17OHP.

Este compuesto es el sustrato de la siguiente enzima, la **21OH**, resultando la síntesis de 11-desoxicortisol que activado, a su vez por la **11 β -hidroxilasa** se transforma en *cortisol*.

El cortisol es el compuesto más activo motivo por el que se considera como la auténtica hormona de toda la ruta. La deshidrogenación del cortisol en el carbono 11 determina la aparición de una función cetona en lugar de alcohol, resultando de esto un factor hormonal menos activo pero que aún conserva actividad glucocorticoide denominado *cortisona*⁸.

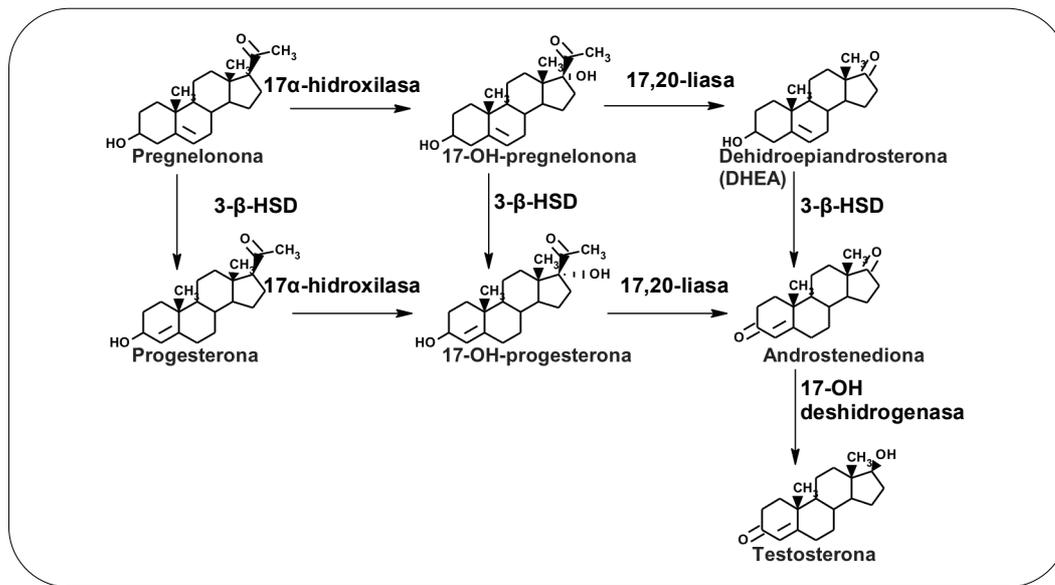
1.3.6. Biosíntesis de andrógenos suprarrenales

Son compuestos sintetizados muy preferentemente en la zona reticular de la corteza suprarrenal aunque también se sintetizan en la zona fascicular⁸.

Los compuestos con actividad androgénica sintetizados en las glándulas suprarrenales son:

- DHEA,
- DHEAS,
- Androstendiona y
- Testosterona.

Figura 10. Síntesis de andrógenos.



El hecho de que la enzima 17αOH tenga dos actividades enzimáticas implica que la enzima desempeña un papel clave en la orientación de la esteroidogénesis hacia la biosíntesis de glucocorticoides (actividad 17αOH pero no actividad liasa) o de esteroides sexuales (presencia de ambas actividades).

- **DHEA:** La mayor parte de la 17-hidroxipregnenolona suprarrenal, está destinada a la síntesis de cortisol en la capa fasciculada de la corteza suprarrenal, pero una pequeña fracción es sustrato de la enzima 17αOH que, mediante sus dos actividades enzimáticas: 17-hidroxilasa y 17,20-liasa, produce en la capa reticular la ruptura oxidativa y la eliminación de la cadena de dos átomos de carbono a nivel del carbono 17 del anillo, resultando así la síntesis de DHEA.
- **DHEAS:** es el andrógeno que se forma en más cantidad debido a que la mayor parte de la DHEA sufre un proceso rápido de sulfatación catalizada por **sulfocinasa**. El DHEAS, en sí mismo, no tiene actividad androgénica, pero es capaz de reactivarse por pérdida del sulfato, generando de nuevo DHEA con actividad androgénica.
- **Androstendiona:** es un andrógeno más potente que los dos anteriores. La DHEA se considera como una prohormona o metabolito intermediario ya que es el precursor de la androstendiona tras dos reacciones catalizadas por:
 - **3β-hidroxideshidrogenasa y**
 - **Δ5,Δ4-isomerasa.**

La androstendiona se forma también a partir de la 17OHP tras una ruptura enzimática catalizada por la actividad enzimática **17,20-liasa**.

- **Testosterona:** es el andrógeno suprarrenal biológicamente más potente, que se forma por la reducción de la androstendiona a nivel del átomo de carbono 17, en una reacción catalizada por la enzima 17-hidroxideshidrogenasa. La producción y secreción realmente importante de la testosterona se da en las glándulas gonadales masculinas.

En condiciones normales, los andrógenos de origen suprarrenal no son trascendentales en el varón, aunque sí pueden tener importancia en la mujer. La situación varía en determinadas condiciones anormales, como tumores hiperfuncionales, tanto en varones como mujeres, o alteraciones enzimáticas, especialmente en la mujer, cuando pueden determinarse cuadros patológicos, algunos sumamente graves²².

1.3.7. Biosíntesis de estrógenos suprarrenales

Como ocurre con los andrógenos, los estrógenos sintetizados y segregados por las glándulas suprarrenales en el sujeto sano son, desde el punto de vista cuantitativo y funcional, mucho menos importantes que los producidos por los ovarios.

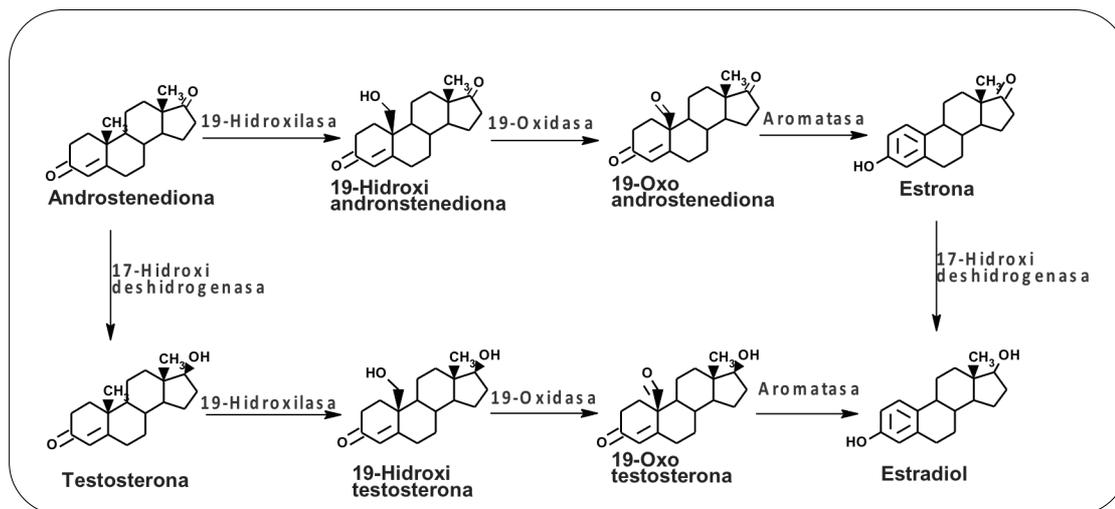
Las hormonas estrogénicas son:

- Estradiol y
- Estrona.

El *estradiol* se produce como derivado de la testosterona, y la *estrona* como derivado de la androstendiona siguiendo las mismas secuencias reactivas.

La transformación se produce en tres etapas catalizadas por las siguientes enzimas:

- 19-hidroxilasa,
- 19-oxidasa y
- Aromatasa.

Figura 11. Biosíntesis de estrógenos.

Estas enzimas forman un complejo denominado **aromatasa**. Las reacciones catalizadas por este complejo constituyen la única ruta de síntesis de los anillos aromáticos que se conoce en las células animales.

La corteza suprarrenal puede sintetizar la totalidad de las hormonas esteroideas del organismo, posee la dotación enzimática que lo hace posible aunque, en condiciones normales, no tiene capacidad suficiente para suplir las funciones endocrinas de las gónadas masculinas ni de las femeninas.

1.4. REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN HORMONAL SUPRARRENAL

La síntesis de glucocorticoides y andrógenos suprarrenales está regulada por la secreción de CRH y ACTH. La síntesis de mineralocorticoides también depende de la secreción de ACTH, pero sobre todo está regulada por el sistema renina-angiotensina. Así, en ausencia de la secreción hipofisaria de ACTH se produce una atrofia total de las zonas fascicular y reticular de las glándulas suprarrenales, donde se sintetizan el cortisol y las hormonas sexuales, mientras que la capa glomerulosa, donde se sintetizan los mineralocorticoides, está relativamente conservada. Si lo que sucede es un aumento de ACTH, como esta hormona controla la primera etapa de la síntesis de todas las hormonas corticosuprarrenales, se produce un aumento de la secreción de glucocorticoides, andrógenos y mineralocorticoides, pero si este aumento de ACTH se mantiene, se aprecia una disminución en la concentración de mineralocorticoides en plasma debido a que su producción está regulada también por otros mecanismos que entran en acción.

1.4.1. Regulación de la secreción de glucocorticoides

La producción de cortisol está regulada por el eje HHS, que actúa por liberación de CRH y ACTH. La concentración de cortisol en plasma es el estímulo principal para la regulación de la secreción de glucocorticoides, pero hay otros factores como la existencia de un ritmo circadiano y las situaciones de estrés.

La CRH se sintetiza en forma de pre-hormona en el hipotálamo y es secretado a la hipófisis donde activa la síntesis de ACTH. La secreción de CRH está regulada por el efecto inhibitorio de los glucocorticoides, tanto en su síntesis como en su liberación. La CRH, además de estimular la secreción de ACTH, aumenta la actividad del sistema nervioso simpático favoreciendo la secreción de catecolaminas por la médula suprarrenal²³⁻²⁵.

El ACTH se sintetiza en la hipófisis a partir de una proteína de mayor tamaño llamada pro-opiomelanocortina (POMC) que también es precursora de otros neuropéptidos, como las endorfinas y la melanotropina²⁶. La síntesis de POMC y la secreción de sus péptidos derivados son estimuladas por la acción de la CRH y es inhibida por los glucocorticoides. El POMC es precursor de diversos péptidos a través de procesos diferentes, dependiendo de su lugar de síntesis y el estímulo que conllevó a su producción. Las proteasas que reconocen los sitios de ruptura son tejido-específicas, así, el producto fisiológico activo en la hipófisis anterior es la ACTH.

La regulación de la secreción de ACTH es multifactorial, interviniendo distintos mecanismos hipotalámicos y periféricos como la arginina-vasopresina, catecolaminas, angiotensina II, serotonina, oxitocina, péptido natriurético atrial, colecistoquinina, péptido vasoactivo intestinal y otros²³.

La ACTH estimula varios procesos, entre los más importantes está la hidrólisis de los ésteres de colesterol. Además, existen dos tipos de efectos del ACTH sobre la esteroidogénesis: los agudos, producidos en pocos minutos y los crónicos que requieren horas o días²⁷.

- El efecto agudo del ACTH consiste en aumentar la transformación del colesterol en pregnenolona, la primera etapa limitante en la esteroidogénesis, lo que se consigue aumentando la transcripción de la proteína StAR que transporta el colesterol libre al interior de la mitocondria y activando la enzima desmolasa.

- El efecto crónico del ACTH consiste en aumentar la síntesis de la mayoría de enzimas de la esteroidogénesis y de las proteínas de las células suprarrenales^{28,29}.

El ACTH también estimula la síntesis de otras proteínas necesarias para la esteroidogénesis, como los receptores para LDL, la adrenodoxina y, en la suprarrenal fetal, la enzima HMG-CoA reductasa, necesaria para la síntesis de novo del colesterol.

La concentración de cortisol en plasma ejerce una regulación por retroacción. Éste produce una inhibición de la secreción de ACTH y CRH y otros factores que favorecen su secreción (vasopresina, angiotensina,...). La retroacción es una reacción inmediata en respuesta a un exceso de corticoides en plasma, aunque a más largo plazo (12 h) se produce también una inhibición que depende de las concentraciones a que ha llegado y del tiempo transcurrido desde el aumento de glucocorticoides. Se cree que el mecanismo de retroacción rápida inhibe los procesos de liberación de CRH y ACTH, mientras que la retroacción lenta actúa inhibiendo su síntesis.

La ACTH puede ejercer, además de sobre el hipotálamo, en sí misma, una retroalimentación negativa de su propia liberación por la hipófisis, es lo que se denomina retroalimentación de asa corta.

Además de todos estos mecanismos de regulación de síntesis de glucocorticoides, cuando se produce una situación estresante, ya sea física o psíquica, hay una estimulación de todo el eje suprarrenal que se superpone a todas las otras regulaciones. La duración e intensidad de la respuesta suprarrenal depende del grado de estimulación.

1.4.2. Regulación de la secreción de los mineralocorticoides

La producción de aldosterona en la zona glomerular está controlada, principalmente, por el sistema renina-angiotensina, que es responsable del control del equilibrio electrolítico y del volumen plasmático. También está regulada por potasio, sodio y ACTH, entre otros.

Los niveles fisiológicos de ACTH pueden regular cambios bruscos en los niveles de aldosterona circulante. La ACTH tiene una acción estimuladora aguda para la aldosterona, aunque el estímulo es de corta duración; en cambio, la secreción crónica de ACTH no logra mantener una sobreproducción de aldosterona, contrariamente a lo que ocurre con

el cortisol, ya que los mecanismos del sistema renina-angiotensina producirán un escape a esta regulación. La ACTH actúa sobre la síntesis de todas las hormonas corticosuprarrenales favoreciendo la captación de colesterol por las células y su transformación en pregnenolona. No obstante, la ACTH no tiene acción sobre el resto de etapas de la síntesis de aldosterona, salvo en situaciones de estrés y en la HSC que influye de forma importante en la secreción de aldosterona³⁰⁻³³.

El sistema renina-angiotensina-aldosterona está regulado por una gran diversidad de factores incluyendo:

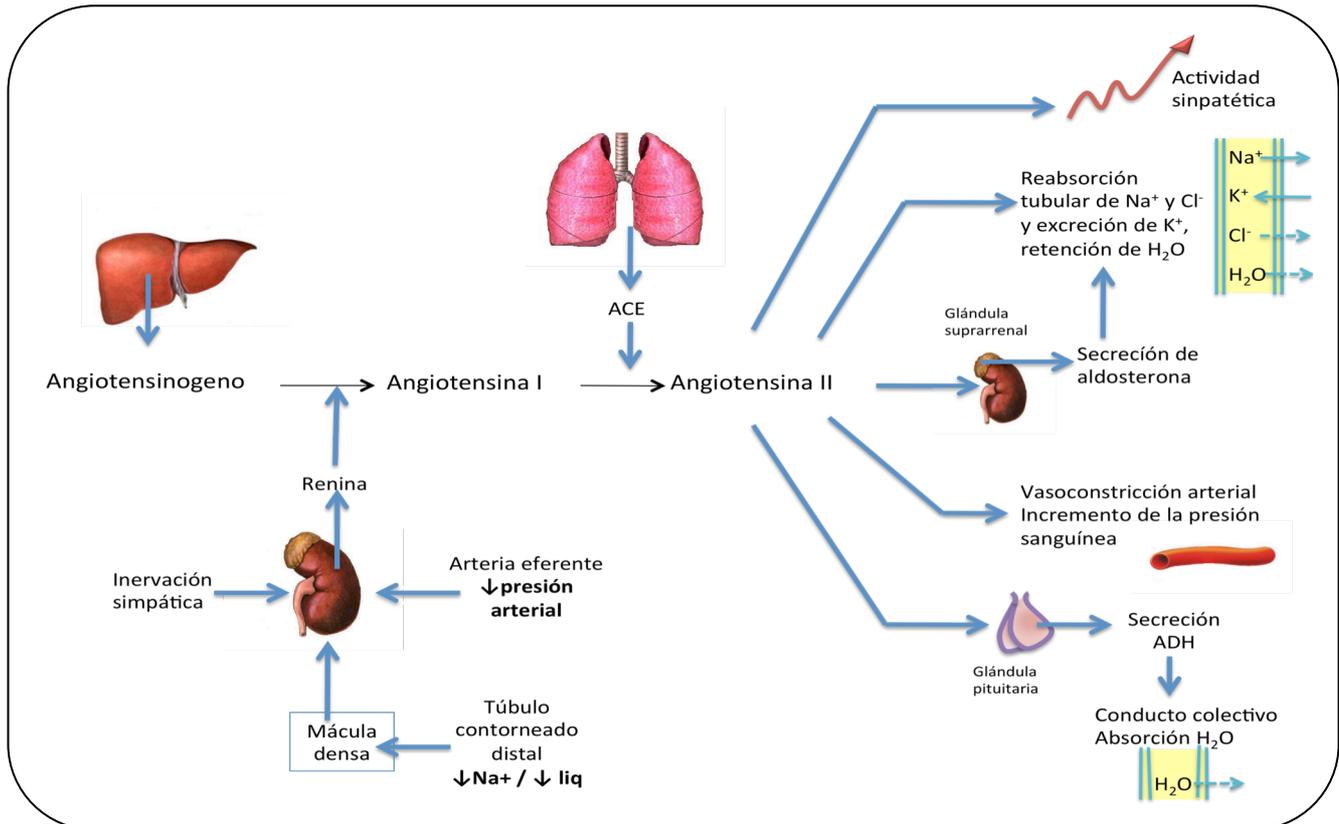
- Un receptor vascular renal, que se localiza en la arteriola aferente, el cual funciona como un receptor de tensión o estiramiento. Una reducción en el estiramiento causa aumento en la liberación de renina y viceversa.
- La mácula densa contiene un tipo diferente de receptor, sensible a cambios en la velocidad de liberación de sodio o cloruro al túbulo distal. Las disminuciones en la liberación distal estimulan la secreción de renina y viceversa.
- En el sistema nervioso simpático, la noradrenalina estimula la secreción de renina por una acción directa en las células yuxtaglomerulares.
- La angiotensina II inhibe la secreción de renina, que resulta de una acción directa de la misma sobre las células yuxtaglomerulares.
- La aldosterona regula negativamente la secreción de renina.

Estas circunstancias son detectadas por un conjunto de células especializadas que constituyen el aparato yuxtaglomerular y responden ante estas situaciones liberando a la circulación una enzima hidrolítica, la **renina**. La renina es una enzima proteolítica que actúa sobre el **angiotensinógeno** (una globulina sintetizada en el hígado), formándose, la **angiotensina I**. La angiotensina I tiene poca actividad biológica intrínseca, pero es hidrolizada de nuevo a **angiotensina II**, un oligopéptido vasoconstrictor, por acción de la **enzima convertora de la angiotensina** (ECA), que se encuentra en el pulmón a altas concentraciones.

En la corteza suprarrenal la angiotensina II, es reconocida por las células de la zona glomerulosa. La captación de la angiotensina II por estas células estimula la síntesis y secreción de aldosterona a la sangre. La aldosterona circulante es captada por las células

del túbulo distal y conducto colector de la nefrona, y favorece la resorción activa de ión sodio del líquido tubular en intercambio por iones potasio e hidrógeno. Esta recuperación de ion sodio conlleva a la recuperación de agua, con lo que el líquido extracelular se expande. La distensión consiguiente de la arteriola glomerular detiene la producción de renina, cerrando el ciclo^{32,34-36}.

Figura 12. Sistema renina-angiotensina.



Los efectos más relevantes de la angiotensina II son los siguientes:

Tabla 1. Efectos de la angiotensina II en diferentes tejidos del organismo.

Tejido o célula	Respuesta
Corteza suprarrenal	Aumento de la síntesis de secreción de aldosterona
Médula suprarrenal	Liberación de catecolaminas
Riñón	Constricción de arteriolas eferentes Estimulación del intercambio Na^+/H^+ en el túbulo proximal Inhibición de la liberación de renina
SNA	Activación simpática central y periférica
Vasos	Constricción de arteriolas y vénulas Hipertrofia muscular lisa
Corazón	Disminución ligera el gasto Disminución del flujo sanguíneo coronario Hipertrofia

1.4.3. Regulación de la secreción de andrógenos suprarrenales

La síntesis de los andrógenos suprarrenales por las zonas fascicular y reticular, al igual de lo que ocurre con el cortisol, depende de la ACTH hipofisaria. En la zona reticular existe una menor actividad de 11-hidroxilasa que en las otras dos zonas, lo que hace que sintetice mayor proporción de andrógenos. Entre los factores que inhiben la actividad de la 11-hidroxilasa se encuentran el cortisol, la androstendiona y la adrenalina. Esto provoca que la zona reticular, al encontrarse sometida a mayores concentraciones de estas hormonas que las otras capas, sintetice fundamentalmente DHEA, DHEAS^{30,37}.

1.5. TRANSPORTE DE ESTEROIDES SUPRARRENALES

El principal glucocorticoide que circula en sangre periférica es el cortisol. El cortisol circula en el plasma unido a proteínas y menos de un 5% en forma libre. Aproximadamente el 75% de cortisol circulante en la sangre está unido a la globulina fijadora de corticosteroides (CBG). Sólo la fracción libre, no unida a proteínas, es considerada activa³⁸⁻⁴⁰.

El principal mineralocorticoide circulante en sangre periférica es la aldosterona, siendo menos activos, aunque su concentración sea superior, la desoxicorticosterona y la corticosterona. La aldosterona se halla unida en un 50-60% a la albúmina. Se une a la CBG con el 10% de afinidad con respecto al cortisol, mientras que la corticosterona y la desoxicorticosterona se unen a la CBG con afinidades del 100 y del 50%, respectivamente. Las concentraciones de aldosterona libre son mayores que las de desoxicorticosterona, el 90% de la cual circula por el plasma unida a proteínas⁴¹.

Entre los andrógenos, la androstendiona y DHEA se unen con mayor afinidad a la proteína de transporte de los esteroides sexuales (SHBG) que a la CBG, pero sus afinidades para la SHBG son muy inferiores a las de los andrógenos testosterona y DHT. También son transportados por la albúmina⁴¹.

1.6. CATABOLISMO Y EXCRECIÓN DE ESTEROIDES SUPRARRENALES

Los esteroides son sustancias hidrofóbicas. Las reacciones catabólicas, además de desactivar las hormonas, sirven también para convertir las moléculas esteroides en productos más hidrofílicos.

Las reacciones catabólicas en su mayoría son reductivas y ocurren sobre todo, aunque no exclusivamente, en el hígado. La solubilidad en agua de los metabolitos esteroides aumenta si se conjugan con ácido sulfúrico o glucurónico. La mayor parte de los metabolitos esteroides se eliminan en orina como sulfatos o conjugados glucuronados hidrosolubles⁴¹.

En las siguientes tablas figuran las principales enzimas que se encargan de catabolizar los esteroides y las especies generadas para la excreción.

Tabla 2. Enzimas catabólicas de inactivación de esteroides.

Enzimas que intervienen en el catabolismo de esteroides	
Reducción de la estructura 4-eno-3-ona	5 α -reductasa 5 β -reductasa 3-cetoesteroide reductasa
Reducción de la estructura 20-cetona	20 α -reductasa 20 β -reductasa
Formación oxidativa de 17-oxoesteroides	17- β -hidroxiesteroide oxidasa Escisión de la cadena lateral

Tabla 3. Metabolitos de excreción de hormonas esteroideas.

Relación entre metabolitos y hormonas	
Cortisol-Cortisona	Tetrahydrocortisol Tetrahydrocortisona Hexahydrocortisol (Cortol) Hexahydrocortisona (Cortolona) 11 β -hidroxiandrosterona 11 β -hidroxietiolanolona
Corticosterona	5 α -tetrahydrocorticosterona 5 β -tetrahydro-11-dehydrocorticosterona
17OHP	Pregnantriol
DOC	THDOC
Testosterona	Androsterona (5 α -tetrahydroandrostendiona)
Androstendiona	Etiolanolona (5 β -tetrahydroandrostendiona)

1.7. EFECTOS DE LOS ESTEROIDES SUPRARRENALES

En la siguiente tabla se recogen las funciones principales de los esteroides suprarrenales.

Tabla 4. Efectos de los esteroides suprarrenales.

Funciones de los esteroides suprarrenales ^{40,42}	
Cortisol (glucocorticoide representativo)	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento del catabolismo nitrogenado proteico - Gluconeogénesis <ul style="list-style-type: none"> • Aumento de la concentración de glucosa en sangre • Disminución de la tolerancia a la glucosa • Aumento de glucógeno hepático • Aumento de glucogenólisis hepática • Disminución de la captación y utilización periférica de glucosa • Disminución de la síntesis de mucopolisacáridos ácido-sulfatados - Síntesis y redistribución de la grasa - Efectos sobre células o tejidos <ul style="list-style-type: none"> • Antiinflamatorio (retraso de las reacciones inflamatorias) • Disolución del tejido linfático • Linfopenia • Eosinopenia • Aumento de la eritropoyesis • Alteración de la permeabilidad celular, disminuyendo especialmente la permeabilidad de las membranas al agua • Aumento de la secreción gástrica (HCl y pepsina)
Aldosterona (mineralocorticoide representativo)	<ul style="list-style-type: none"> - Regulación electrolítica <ul style="list-style-type: none"> • Retención de sodio • Excreción de potasio • Retención de agua y expansión del volumen extracelular - Aumento de la presión sanguínea
Andrógenos	<ul style="list-style-type: none"> - Anabolismo nitrogenado proteico <ul style="list-style-type: none"> • Crecimiento y maduración ósea y muscular - Vello corporal (púbico y axilar) - Seborrea

1.8. ESTEROIDOGÉNESIS EN LA UNIDAD FETOPLACENTARIA

La función esteroidogénica de la unidad fetoplacentaria se entiende como un sistema de compartimentos funcionales en el que se integran madre, placenta y feto. Los compartimentos fetal y placentario, separadamente, carecen de distintas actividades enzimáticas. El compartimento materno actúa fundamentalmente como fuente de sustancias precursoras y como órgano de excreción de productos, aprovechando, además el efecto biológico de éstos.

El concepto de unidad fetoplacentaria considera la placenta como una glándula endocrina incompleta en lo que se refiere a la síntesis de esteroides, que necesita de la participación del feto para complementarla.

Durante el embarazo, la placenta sintetiza cantidades considerables de progesterona, estradiol, estrona y estriol, que pasan a la circulación y de ahí al feto y a la madre. Además el rol que ocupan estas hormonas en el mantenimiento del embarazo, en el desarrollo fetal y en el parto son muy importantes⁴³.

La formación de los esteroides biológicamente activos depende de los precursores proporcionados por los compartimentos materno y fetal. La placenta utiliza el colesterol materno dada su incapacidad de sintetizarlo de novo. Tampoco es capaz de realizar la 17-hidroxilación de la pregnenolona y progesterona por carecer de la 17-hidroxilasa, por esta razón, la conversión de C-21 en C-19 se realiza fundamentalmente en el compartimento fetal, y más concretamente, en la suprarrenal. Por este motivo, hasta la octava semana de gestación, al ser el ovario el que se encarga de la esteroidogénesis, la formación de estrógenos se realiza por vía normal desde la progesterona, por ello se encuentran niveles de 17OHP en plasma que desaparecen a partir de la octava semana de gestación, cuando la placenta es la fuente dominante de secreción⁴⁴.

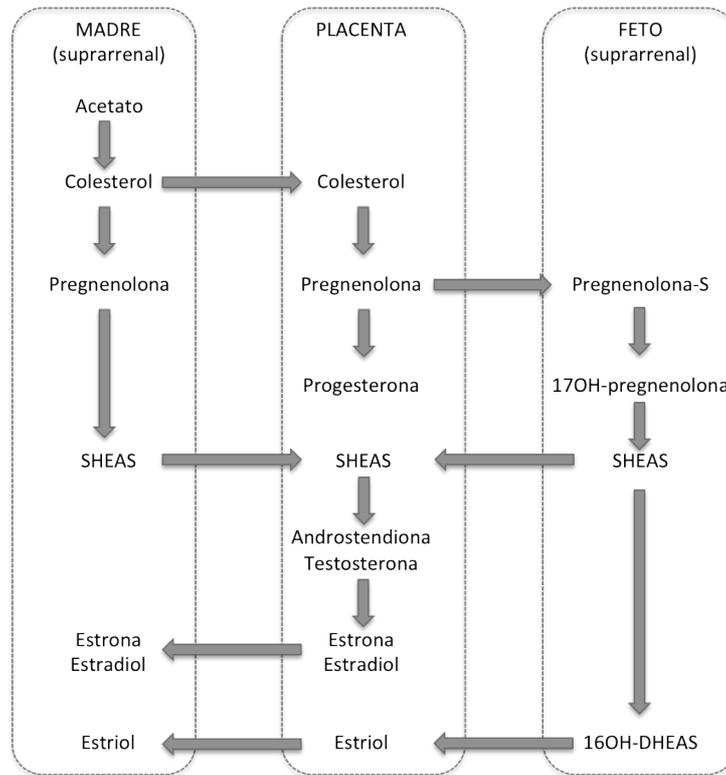
La síntesis de progesterona se realiza a partir del colesterol materno que la placenta posee en cantidad, convirtiéndolo en progesterona, la cual, en su mayor parte, pasa a la circulación materna y el resto es metabolizado en la placenta.

La síntesis de estrógenos por la placenta se realiza a partir de la pregnenolona que ésta proporciona a la suprarrenal fetal, donde se convierte en DHEAS. El DHEAS fetal, junto con una parte mucho menor de procedencia materna, vuelven a la placenta, donde por acción de la sulfatasa, se produce DHEA libre (no conjugada). La DHEA, ya libre, es convertida en androstenodiona y testosterona, andrógenos que son inmediatamente convertidos en la misma placenta en estrona y estradiol mediante aromatización.

El estriol, a pesar de ser el estrógeno cuantitativamente más importante durante la gestación, no puede ser sintetizado por la placenta. En efecto, ésta carece de la actividad enzimática necesaria para incorporar el tercer grupo hidroxilo en el carbono 16. Esto puede realizarlo el hígado materno, pero lo hace fundamentalmente el hígado fetal a

partir del DHEAS, que le proporciona su suprarrenal y lo convierte en 16α -OH-DHEAS. Este último producto pasa de nuevo a la placenta donde actúa la sulfatasa, convirtiéndolo en la forma libre, y finalmente, es transformado en estriol mediante aromatización⁴⁵.

Figura 13. Esteroidogénesis fetoplacentaria.



La glándula adrenal fetal humana se compone de: médula, zona fetal y zona parecida al adulto o definitiva.

A las seis semanas de gestación, la glándula adrenal fetal aparece como una condensación de epitelio celómico sobre los riñones. Las células de esa zona son muy parecidas a las que constituyen la zona fetal de los fetos en edad gestacional (EG) más avanzada. A las ocho semanas se produce una proliferación de células epiteliales que forman una capa sobre la zona fetal y que constituirá la zona definitiva, la que subsistirá en el período adulto.

En el lapso de 10-20 semanas de gestación, dobla su tamaño. Puede decirse que la glándula adrenal fetal tiene dos veces el peso de los riñones y que los fetos al final de la gestación tienen una zona fetal en la glándula adrenal que comprende aproximadamente el 80% de la glándula total.

Después del nacimiento el peso de la glándula adrenal decrece en el humano desde 8 a 5 g en cinco semanas y la zona fetal desaparece en el primer año de vida.

Las dos sustancias que principalmente segrega la glándula adrenal fetal son: DHEAS y cortisol. El primero se sintetiza en la zona fetal y el segundo en la definitiva.

La DHEAS se sintetiza a partir de acetato o de colesterol. También puede ser formada por conversión directa, desde otros sulfatos de esteroides, comenzando la vía desde sulfato de colesterol hasta DHEAS.

El paso desde DHEAS a 16α -OH-DHEAS se realiza escasamente en la glándula adrenal fetal. Esta conversión se verifica en el hígado fetal, posteriormente ambas sustancias sirven como sustratos en la placenta para dar estrógenos: DHEAS produce estradiol y 16α -OH-DHEAS produce estriol.

En la zona definitiva el cortisol puede ser formado por síntesis desde la progesterona de la madre, o de novo desde LDL-colesterol. No se conoce con exactitud cual de las dos vías es la más utilizada. Pero parece que la capacidad de la glándula adrenal fetal para secretar progesterona es pequeña y además, existe una deficiencia del complejo 3β -HSD.

La síntesis de cortisol va aumentando a medida que avanza la gestación. La producción de DHEAS también va aumentando. En el humano esta sustancia perdura la primera semana de vida extrauterina y después declina probablemente reflejando atrofia de la zona adrenal fetal.

La corteza adrenal fetal en la zona definitiva secreta desoxicorticosterona y aldosterona. Estas secreciones comienzan en el humano a las 10-20 semanas de gestación y aumenta al final de ella.

Existe una gran transferencia materna de cortisol al feto a través de la placenta. Mucha parte de este cortisol materno se encuentra en el feto en forma de corticosterona. En el feto los niveles de corticosterona son 5-10 veces más altos que en la circulación materna. El cortisol también pasa del feto a la madre.

En el feto también ocurre una transformación de cortisona a cortisol, ya que varios tejidos fetales incluyendo pulmón, riñón, membrana amniótica e hígado tienen la actividad enzimática $11\beta\text{OH}$.

La esteroidogénesis fetal está regulada por el eje HSS. El control a través de ACTH madura progresivamente durante la segunda mitad de la gestación y el principio del periodo neonatal⁴⁵.

La producción de hormonas esteroideas fetales juegan un papel importante en el mantenimiento del embarazo, homeostasis intraútero, maduración fetal e inicio del parto.

En el caso de los RN pretérmino pueden tener una capacidad limitada para mantener la homeostasis debido a que no exista una correcta activación del eje HHS. La inmadurez y la enfermedad de estos RN puede provocar una función adrenal inadecuada. En los RN prematuros la función de la glándula suprarrenal está íntimamente relacionada con la duración de la gestación⁴⁶. No obstante, en RN prematuros de menos de 30 semanas de gestación, la producción de cortisol, evaluada mediante la cuantificación de metabolitos de cortisol en orina, se aproxima a la producción de cortisol de niños mayores y adultos, pero no existe un aumento de cortisol en los RN prematuros en situación de enfermedad⁴⁷. La suprarrenal fetal no expresa la enzima $3\beta\text{HSD}$ antes de la semana 23 de gestación, y no hay evidencias de una inmadurez significativa en la actividad de prematuros nacidos entre las semanas 24-28 de gestación⁴³. Por otro lado, en prematuros con insuficiencia adrenal las concentraciones de cortisol y otros metabolitos esteroideos no son más bajas que en otros prematuros sin esa patología⁴⁸.

Todas estas observaciones sugieren que mientras los RN prematuros no presentan deficiencia en la producción de cortisol, poseen una capacidad limitada para sintetizar la cantidad de cortisol suficiente para responder al grado de estrés clínico que puedan presentar⁴⁹.

1.9. HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA

La Hiperplasia Suprarrenal Congénita (HSC) es el conjunto de alteraciones que afectan a la esteroidogénesis suprarrenal, proceso que involucra la participación de una serie de enzimas que, actuando de forma secuencial y coordinada, producen la síntesis de glucocorticoides, mineralocorticoides y hormonas sexuales a partir del colesterol^{9,50-52}.

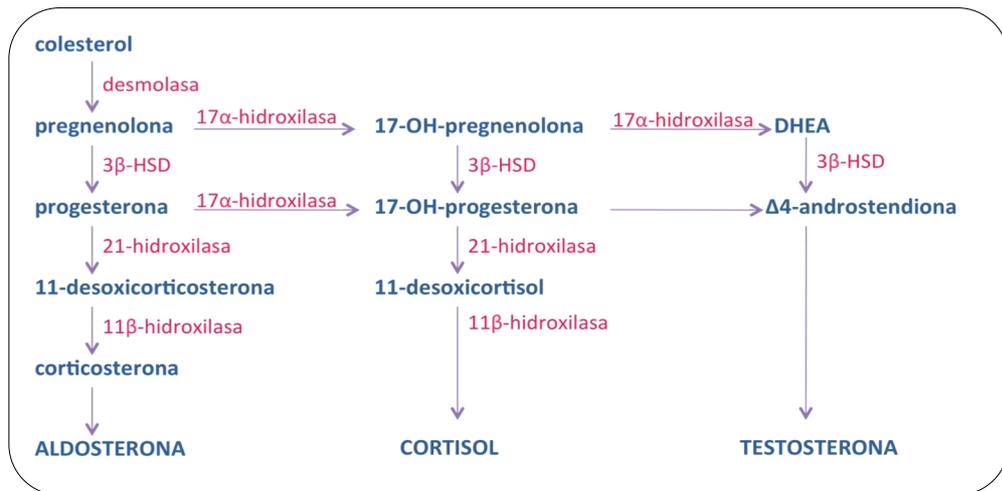
Aquellos pacientes afectados por HSC sufren una ausencia o disminución de la capacidad catalítica de alguna de esas enzimas involucradas en el proceso bioquímico de la transformación del colesterol. Se trata de un grupo de enfermedades autosómicas recesivas⁵³.

Las enzimas cuyo defecto implican una HSC por orden de frecuencia son:

- **21OH:** encargada de la conversión de progesterona en desoxicorticosterona y de 17-hidroxiprogesterona (17OHP) en 11-desoxicortisol.
- **11βOH:** necesaria para la conversión de desoxicorticosterona en corticosterona y de 11-desoxicortisol en cortisol.
- **3βHSD /Δ5-Δ4 isomerasa :** enzima necesaria para la transformación de los Δ5-3β-hidroxiesteroides en Δ4-3β-cetoesteroides.
- **17αOH:** cataliza la conversión de los 17-desoxiesteroides en 17-hidroxiesteroides.
- **StAR:** proteína esencial para el transporte del colesterol al interior de la mitocondria y su posterior transformación en pregnenolona.

Todas las formas de HSC conllevan un déficit de la síntesis de cortisol con la resultante suspensión del retrocontrol negativo ejercido por éste sobre la secreción de ACTH. La ruptura del bucle de retrocontrol produce una hipersecreción de ACTH, causa directa de la hipertrofia de las glándulas suprarrenales. El aumento de la secreción de ACTH que intenta compensar la deficiente producción de cortisol activa paralelamente el resto de enzimas funcionantes, estimulando la síntesis de otros esteroides que darán lugar a diversas manifestaciones clínicas^{9-11,14,51}.

Figura 14. Esteroidogénesis suprarrenal.



El déficit de la síntesis de cortisol y la insuficiencia suprarrenal (en grado variable), pueden ir acompañadas de hipo o hiperfunción de andrógenos y/o mineralocorticoides en función del defecto enzimático, así la HSC se puede manifestar clínicamente por un fenotipo virilizante o feminizante, con o sin pérdida salina y con o sin hipertensión.

Tabla 5. Características generales de los distintos tipos de HSC.

Tipo HSC	Déficit 21OH	Déficit 11-β-OH	Déficit 17-α-OH	Déficit 3βHSC	Hiperplasia lipoidea
Enzima	P450c21	P 450c11	P450c17	3β-HSD	StAR
Gen	CYP21	CYP11B1	CYP17	HSD3B2	STAR
Localización	6p21.3	8q24.3	10q24.3	1p13.1	1p11.2
Genitales ambiguos	Virilización (F)	Virilización (F)	Feminización (M) No pubertad (F)	Feminización (M) Débil masculinización (F)	Feminización (M) No pubertad (F)
Incidencia	1:10-18000	1:100000	Rara	Rara	Rara
Glucocorticoides	↓	↓	↑	↓	↓
Mineralocorticoides	↓	↑	↑	↓	↓
Andrógenos	↑	↑	↓	↓	↓
Sodio	↓	↑	↑	↓	↓
Potasio	↑	↓	↓	↑	↑
Metabolitos elevados	17OHP Androstendiona	11-desoxicortisol DOC	Corticosterona DOC	17OHPregnenolona DHEA	

Dependiendo del punto donde se produzca el bloqueo y de la magnitud de éste, serán las consecuencias clínicas que sufran los sujetos afectados. Cuando la falta enzimática es grave y se produce en las etapas iniciales de la esteroidogénesis puede que no se produzca ningún esteroide, siendo el defecto incompatible con la vida. En el otro

extremo tenemos los casos en los que el defecto es distal y leve y puede pasar inadvertido.

En las formas severas o clásicas el bloqueo enzimático es completo y se inician ya sus manifestaciones en la época fetal, mientras que en las formas no clásicas el déficit es parcial y las manifestaciones clínicas son más tardías (infancia, peripuberal o más tarde)^{51,52}.

1.9.1. Incidencia

La incidencia de HSC clásica varía entre 1:10 000-1:20 000 recién nacidos (RN) vivos, estimándose una prevalencia de portadores de la mutación de 1 de cada 60 individuos¹². En la forma de pérdida salina es sobre 1:13 300 y se da en el 75% de los casos de HSC. La frecuencia de la forma virilizante simple es de aproximadamente 1:40 000 RN y se da en el 25% de los casos. Las tasas son amplias con valores que dependen del área geográfica y de la etnia cribada, desde muy elevadas en dos poblaciones aisladas geográficamente como la etnia Yupik de Alaska (1:280 nacimientos) y en la isla francesa de La Reunión (1:2 100); elevadas en Arabia Saudí (1:5 000) y Filipinas (1:7 000) o bajas como en Nueva Zelanda (1:21 270). En España el cribado neonatal de la HSC clásica mostró una incidencia de 1:16 441 RN⁵⁴.

Las cifras publicadas de incidencia del déficit clásico de 21OH varían en función de si el diagnóstico se realiza por sospecha clínica o si fue por cribado neonatal. Los datos procedentes de los programas de cribado neonatal se ajustan mejor a la realidad ya que muchos de los casos con HSC clásica con pérdida salina podrían no estar contabilizados al morir antes de ser diagnosticados de la enfermedad.

En la siguiente tabla se recogen las incidencias aportadas por la bibliografía para distintos países.

Tabla 6. Incidencia de HSC en distintos países.

País	Referencia bibliográfica	Incidencia
España	54	1: 16 441
Alaska, Yupik	55	1:280
La Reunión (Francia)	56	1:2100
EE.UU. Colorado	57	1:17 789
Suecia	58	1:11 688
Cuba	59	1:15 931
Brasil	60	1:19 939
Francia	61	1:15 699
EE.UU. Minnesota	62	1:17 493
Japón	63	1:19 160
República Checa	64	1:11 345
Tailandia	65	1: 5 771
India	66	1: 6 813
Grecia	67	1:22 500
Argentina	68	1: 8 937
Australia	69	1: 18 034
Brasil	70	1: 6 942
Italia	71	1:21 380
EE.UU. Wisconsin	72	1:21 345

1.9.2. Principales manifestaciones clínicas de la HSC

La HSC presenta como principales manifestaciones clínicas el síndrome de pérdida salina, de especial importancia en el período neonatal, la ambigüedad genital (tanto pseudohermafroditismo masculino (PHM) como femenino (PHF)), el hiperandrogenismo postnatal y la hipertensión arterial^{51,52}.

Tabla 7. Manifestaciones clínicas de los distintos tipos de HSC.

Déficit	Frecuencia (%HSC)	PHF	PHM	Pérdida salina	Hiperandrogenismo	Hipertensión
StAR	<<1	-	+	+	-	-
17-α-OH	1	-	+	-	-	+
3βHSC	<1	(+)	+	+/-	+/-	-
11-β-OH	3-8	+	-	-	+	+
21OH	90-95	+	-	+/-	+	-

a) Pérdida salina

Las formas de HSC que cursan con pérdida salina son las deficiencias de proteína StAR, de 3 β HSD y de 21OH. La pérdida salina se debe al déficit de aldosterona,

generalmente se presenta a partir de la primera semana, pero se han descrito casos con pérdida salina durante el primer día de vida.

En el déficit severo de 21OH, forma clásica con pérdida salina, la acción antiminerlocorticoide de los elevados niveles de progesterona y 17OHP sobre el riñón del RN que, ya de por sí, tiene limitada la capacidad de reabsorción de sodio, no puede ser compensada por la aldosterona a pesar de la elevada concentración de renina.

En las formas clásicas sin pérdida salina del déficit de 21OH, el bloqueo enzimático es menos severo y el aumento de la renina y de la aldosterona consiguen compensar la acción de la progesterona y de la 17OHP, manteniéndose normal el balance hidroelectrolítico.

En las formas no clásicas no existe pérdida salina.

En las deficiencias severas de 3βHSD y de proteína StAR se manifiesta la pérdida salina en el periodo neonatal y puede constituir la única manifestación clínica evidente en los varones con PHM y criptorquidia, que son confundidos con niñas^{9,10,13,73-76}.

b) Hiperandrogenismo postnatal

El hiperandrogenismo consiste en la existencia de niveles aumentados de andrógenos, especialmente testosterona libre⁷⁷.

Se presenta un hiperaldosteronismo en las formas virilizantes de HSC (déficit de 21OH y 11βOH) afectando a pacientes de ambos sexos y en algunas niñas con déficit de 3β-HSD.

En las formas clásicas insuficientemente tratadas, la virilización progresa durante la infancia manifestándose, en los varones, como una pseudopubertad precoz con testículos prepuberales, progresión de los caracteres sexuales secundarios, aceleración del crecimiento y de la maduración ósea y compromiso de la talla final; en las niñas se manifiesta con hipertrofia de clítoris, vello púbico, acné y aceleración del crecimiento y de la maduración ósea^{9,10,13,78}.

En las formas no clásicas puede manifestarse el hiperandrogenismo durante la infancia como una pseudopubertad precoz lentamente progresiva en los varones o como una pubarquía prematura en las niñas. En la adolescencia, las formas no clásicas suelen

pasar inadvertidas en los varones y, generalmente, se diagnostican en mujeres en edad peripuberal porque suelen asociarse el hiperandrogenismo adrenal y un hiperandrogenismo funcional ovárico. Las manifestaciones más frecuentes son el acné, la seborrea, la hipertrofia de clítoris, las alteraciones menstruales, el hirsutismo, la esterilidad y, en ocasiones, el sobrepeso y la resistencia a la insulina^{9,10,77,79,80}.

c) Genitales ambiguos

El RN con genitales ambiguos constituye una urgencia médica que debe ser manejada adecuadamente para prevenir y tratar las posibles complicaciones derivadas del proceso de base (crisis adrenal), así como para llevar a cabo la asignación de sexo y la corrección quirúrgica de los genitales, atendiendo, a su vez, la ansiedad de los padres⁸¹⁻⁸³.

La ambigüedad sexual que presentan los pacientes con HSC corresponde siempre a un pseudohermafroditismo y en la mayor parte de los casos a un PHF secundario a una forma virilizante de HSC (déficit de 21OH o 11 β OH). En el déficit de 3 β -HSC las niñas pueden presentar una discreta virilización. Las deficiencias de 3 β -HSC, proteína StAR y 17 α OH, poco frecuentes, cursan con insuficiente virilización de los varones, PHM^{81,83}.

En la práctica, el grado de virilización genital se valora según los estadios establecidos por Prader^{83,84}:

- I: Genitales femeninos.
- II: Hipertrofia de clítoris.
- III: Fusión labial, seno urogenital único e hipertrofia de clítoris.
- IV: Fusión labial completa con aspecto escrotal y clítoris semejante a un micropene con hipospadias perineal.
- V: Genitales de aspecto masculino, sin gónadas palpables.

Además del tratamiento sustitutivo correspondiente, que se iniciará lo antes posible, se decide la asignación de sexo teniendo en cuenta que las niñas con PHF tienen ovarios normales, son potencialmente fértiles y se les debe asignar el sexo femenino. La corrección quirúrgica de los genitales se realiza antes de los dos o, como muy tarde, los tres años de edad. En el PHM, tanto el diagnóstico como la decisión de la asignación del sexo son más difíciles; ésta se toma en base al tamaño del pene, la respuesta al test de hCG y al aumento del pene al tratamiento con testosterona^{85,86}.

Figura 15. Grados de virilización genital.

Grado de virilización	Aspecto de los genitales externos	Aspecto de corte anterioposterior	Aspecto desde abajo	
Ligero	Hipertrofia del clítoris Vulva pequeña			I
Intermedio	Clítoris muy hipertrofiado Seno urogenital			II
				III
Intenso	Clítoris desarrollado como un miembro viril, meato uretral abocado en la cara interior del clítoris hipertrófico Ausencia de testículos (anorquidia)			IV
Extremo	Aspecto externo de genitales masculinos normales, ausencia de testículos en las bolsas			V
Aspecto normal al corte anteposterior				

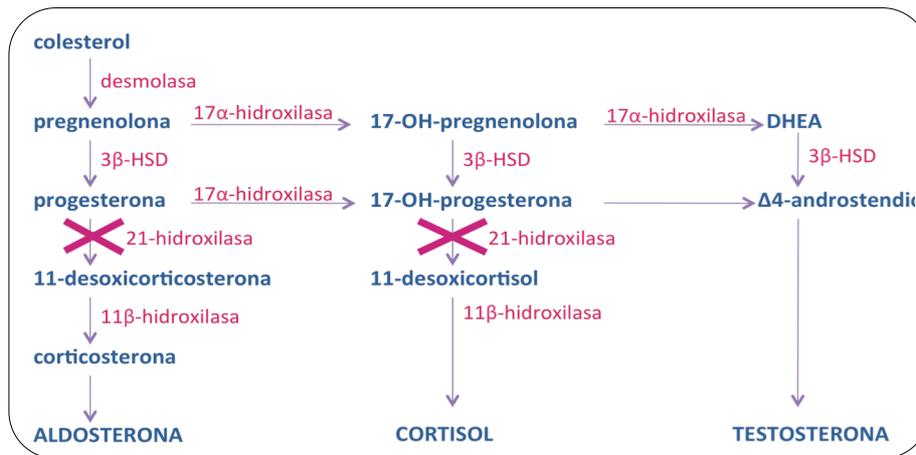
d) Hipertensión arterial

Las dos formas de HSC que cursan con hipertensión arterial son las deficiencias de $11\beta\text{OH}$ y de $17\alpha\text{OH}$; en ambos casos se produce un aumento de DOC, con acción mineralocorticoide, que causa la retención salina y la hipertensión; están frenados el sistema renina-angiotensina y la producción de aldosterona. El tratamiento consiste en la administración de glucocorticoides y si a pesar del frenado de la ACTH persiste la hipertensión arterial se usan los hipotensores^{9,10,87,88}.

1.10. DÉFICIT DE 21-HIDROXILASA

El déficit de 21OH es la forma más frecuente de HSC y supone el 90-95% de los casos; por ello, a menudo se le considera sinónimo de HSC.

La enzima con actividad 21OH, cataliza la tercera etapa de la biosíntesis del cortisol a nivel de las capas fascicular y reticular y, también, de la aldosterona a nivel de la capa glomerular.

Figura 16. Bloqueo enzimático 21OH.

1.10.1. Fisiopatología

La variabilidad clínica del déficit de 21OH se caracteriza por un espectro muy amplio de síntomas, por lo que es necesaria una clasificación. Se divide en dos grandes categorías^{9,51}:

- **Clásicas**, donde las manifestaciones de la enfermedad se inician ya in útero y representan las formas más severas.
- **No clásicas**, donde las manifestaciones se inician en la edad postnatal.

A su vez, dentro de las formas *clásicas* se distinguen:

- La forma con **pérdida salina**, que supone la forma más severa y en la que el defecto enzimático afecta también a la síntesis de aldosterona, presentando síntomas de insuficiencia mineralocorticoidea severa, y
- La forma **virilizante simple**, que sería un grado menos severo que la anterior pero igualmente con manifestaciones clínicas que se inician ya en la época fetal.

Las formas *no clásicas* representan las formas moderadas de la enfermedad, que a su vez pueden diferenciarse en:

- **Sintomáticas** y
- **Críticas**, donde los pacientes no presentan síntomas clínicos.

Las formas clínicas se correlacionan con el grado de actividad enzimática; así en las formas clásicas con pérdida salina hay una ausencia de actividad de 21OH, en las formas

clásicas virilizantes simples hay un 1-2% de actividad y en las formas no clásicas la actividad es variable, superior al 2% y en ocasiones hasta el 50%^{9,10}.

El defecto fundamental radica en la incapacidad de estos pacientes para sintetizar cortisol, que a su vez produce por retrocontrol negativo, un incremento de la producción de CRH y ACTH. Secundariamente, las glándulas suprarrenales se hipertrofian e hiperplasian y producen cantidades elevadas de los precursores esteroideos que no requieren la 21-hidroxilación para su síntesis: 17-hidroxipregnenolona y 17OHP. Una vez sintetizados, estos precursores son posteriormente metabolizados hacia andrógenos activos biológicamente como androstendiona, testosterona y DHT y, en menor grado, hacia estrógenos como estrona y estradiol.

Este bloqueo enzimático provoca también una disminución en la síntesis de aldosterona, situación que conduce a un incremento de la actividad del eje renina-angiotensina, que a pesar de estimular la capa glomerular no aumenta la secreción de aldosterona y, consecuentemente, existe una disminución de la relación entre aldosterona/renina. Si el déficit de 21OH es parcial, la hiperreninemia restablece la secreción de aldosterona, no habiendo pérdida salina en condiciones basales, pudiendo aparecer, no obstante, al menos con signos bioquímicos, en situaciones de estrés o de aporte insuficiente de sal. Por el contrario, si el déficit es total, la hiperreninemia no compensa el déficit de aldosterona y aparece la crisis de pérdida salina, que se manifiesta en el periodo neonatal, si bien con una fase de latencia debido al débil aclaramiento de la aldosterona en los primeros días de vida. Con una actividad de la enzima 21OH mínima del 1 % de su valor normal se puede sintetizar aldosterona para evitar la pérdida salina significativa, como se observa en las formas virilizantes simples y no clásicas^{9,10,12,51}.

Las características más significativas de cada una de las formas de HSC debida a déficit de 21OH se recogen en la siguiente tabla.

Tabla 8. Diferencias entre las formas clásica y no clásica de HSC debida a déficit de 21OH.

	Clásica				No clásica	
	Pérdida salina		Virilizante simple			
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Edad de diagnóstico	RN-6 meses	RN-1 mes	2-4 años	RN-2 años	Infancia-adulto	
Genitales	Normal	Ambiguos	Normal	Ambiguos	Normal	
Aldosterona	↓		Normal		Normal	
Renina	↑		Posiblemente ↑		Normal	
Cortisol	↓		↓		Normal	
17OHP	>600 nmol/L		300-600 nmol/L		45-300 nmol/L (estimulación con ACTH)	
Testosterona	↑ sólo en prepubertad	↑	↑ sólo en prepubertad	↑	↑ variable en prepubertad	↑ variable
Tratamiento	Glucocorticoides Mineralocorticoides (Na)		Glucocorticoides (Mineralocorticoides)		Glucocorticoides (si es sintomático)	
Incidencia	1/20 000		1/60 000		1/1 000	
% Actividad enzimática	0		1		20-50	

1.10.2. Clínica

a) Formas clásicas

Clásica con pérdida salina

Es la forma más severa de la enfermedad y se debe a un déficit en la síntesis tanto de cortisol como de aldosterona, que se manifiesta en ambos sexos con crisis de pérdida salina en la época neonatal; y a un exceso de la producción de andrógenos adrenales en la edad fetal, que produce una virilización de los genitales externos en las niñas^{9,74,89,90}.

Entre los pacientes con HSC clásica, alrededor del 75% de los casos no tienen capacidad para sintetizar suficiente cantidad de aldosterona debido a la afectación de la 21-hidroxilación de la progesterona a nivel de la capa glomerular y presentan crisis de pérdida salina. Esta crisis de pérdida salina se ve agravada por el efecto antialdosterona de los metabolitos que se acumulan como progesterona y 17OHP.

Debido al déficit de aldosterona se produce: una pérdida renal de sodio, niveles altos de potasio, niveles elevados de renina y depleción de la volemia. La pérdida salina puede presentarse con síntomas tan inespecíficos como rechazo de las tomas, vómitos, letargia, diarreas y estacionamiento ponderal. Los pacientes se suelen presentar entre la

primera y cuarta semana de vida con deshidratación, hiponatremia, hiperkalemia, hiperreninemia, acidosis, hipoglucemia y colapso hipovolémico. Esta crisis de insuficiencia suprarrenal puede ser fatal si no se instaura un tratamiento adecuado. La hipoglucemia junto con la hiponatremia severa puede afectar al desarrollo neurológico del paciente^{9,10,51}.

Los pacientes con afectación de la síntesis de aldosterona por déficit de la 21OH siempre tienen un déficit severo de cortisol asociado, que agrava el déficit de mineralocorticoides. Ello explica que el colapso y la hiponatremia sean mucho más severos en el déficit clásico de 21OH, en el que se afecta tanto la síntesis de cortisol como de aldosterona, que en el déficit de aldosterona sintetasas con afectación selectiva de la síntesis de aldosterona.

El hiperandrogenismo que se observa en este déficit puede producir una virilización prenatal. El exceso de secreción suprarrenal de andrógenos no afecta a la diferenciación de los genitales externos en el varón. Sin embargo, ocurre todo lo contrario para las niñas, en las que dicho hiperandrogenismo produce una virilización de los genitales externos. En las mujeres afectas, cuando la suprarrenal fetal comienza a producir andrógenos en cantidades elevadas, el seno urogenital se encuentra en proceso de septación y los niveles de andrógenos pueden impedir la formación de vagina y uretra como estructuras separadas e independientes. Posteriormente, los andrógenos actuarán sobre sus receptores induciendo la aparición de hipertrofia del clítoris, fusión de los labios y migración restral del orificio uretral/vaginal. De esta manera, se produce una progresiva y variable virilización de los genitales externos que lleva a la aparición de unos genitales ambiguos. El grado máximo dará un fenotipo masculino con hipertrofia peniforme del clítoris, hipospadias perineal y labios mayores escrotalizados con ausencia de testes. Las niñas fuertemente virilizadas por el déficit clásico de 21OH son erróneamente identificadas como varones con criptorquidia, lo que puede motivar importantes trastornos para la paciente. Por el contrario, las estructuras derivadas de los conductos de Wolff requieren unas concentraciones locales mucho más altas de testosterona que los genitales externos para lograr su diferenciación completa^{91,92}.

Otro supuesto efecto de la exposición prenatal al exceso de andrógenos es el hallazgo, tanto en varones como en mujeres, de una mayor longitud al nacimiento. Sin embargo y debido al avance exagerado de la edad ósea se produce un cierre precoz de los cartílagos de crecimiento, resultando en una talla final inferior a la esperada para las tallas de los padres.

En la etapa postnatal, el exceso de andrógenos continúa virilizando los genitales y determina la aparición de una pseudopubertad precoz. Los signos de hiperandrogenismo incluyen vello pubiano, vello axilar y facial, olor corporal, acné severo, musculación llamativa de niño/a, crecimiento exagerado del pene e hipertrofia del clítoris.

Durante la adolescencia, las chicas no bien tratadas, pueden manifestar acné, hirsutismo y disfunción ovárica. Un mal control de la enfermedad en los varones se puede asociar con testículos pequeños, infertilidad y oligospermia; ello se debe a que el exceso de andrógenos acumulados son aromatizados periféricamente a estrógenos, que frenan las gonadotropinas hipofisarias y, por tanto, el crecimiento y función testicular.

Clásica virilizante simple

Esta forma clínica, que representa el 25% de los casos de déficit clásico de 21OH, se caracteriza por la existencia de una deficiencia en la síntesis del cortisol y un exceso en la producción de los andrógenos suprarrenales desde la época fetal. Sin embargo, a diferencia de la forma con pérdida salina, la síntesis de aldosterona no está tan severamente alterada, por lo que se mantiene la homeostasis del sodio a pesar de que los niveles de renina pueden estar elevados, aunque se acepta que un cierto grado de pérdida salina está presente en todas las formas virilizantes simples, ya que todos los sujetos tienen una tasa elevada de renina plasmática^{74,89,90,93}.

El efecto de los altos niveles de andrógenos es el mismo que en la forma clásica con pérdida salina, tanto en varones como en mujeres.

b) Formas no clásicas

En las formas no clásicas existe un déficit parcial de la 21OH que motiva un exceso de andrógenos de aparición postnatal^{90,94}.

La síntesis de aldosterona y el balance de sodio no están alterados, por lo que no presentan pérdida salina, aunque en condiciones de estrés puede haber ligeras variaciones en la analítica. Igualmente, la síntesis de cortisol durante situaciones de estrés no se ve clínicamente alterada y no se han descrito crisis de insuficiencia suprarrenal en estos pacientes.

Las niñas, en el nacimiento, presentan genitales femeninos normales o, como mucho, una discreta hipertrofia de clítoris y, en ambos sexos, los signos de hiperandrogenismo pueden manifestarse en cualquier fase del desarrollo postnatal. Los síntomas de presentación más frecuentes en la infancia son pubarquia prematura, piel grasa con acné, aceleración del crecimiento y de la maduración ósea y, en las niñas, puede aparecer una moderada hipertrofia del clítoris. En la adolescencia y edad adulta, las mujeres pueden presentar oligomenorrea o amenorrea, hirsutismo, calvicie con patrón masculino, ovario poliquístico, acné quístico e infertilidad. En el caso de los varones, pueden presentar acné, oligospermia e infertilidad, pero la mayoría de las veces son asintomáticos y se diagnostican en el curso de estudios familiares⁹⁵.

A los pacientes que presentan los hallazgos hormonales típicos de una forma no clásica pero no presentan ninguna sintomatología se les denomina genéricamente formas crípticas⁹⁴⁻⁹⁶.

1.10.3. Diagnóstico

El diagnóstico del déficit de 21OH se basa en la demostración de niveles plasmáticos elevados de 17OHP, que es el metabolito previo al bloqueo.^{10,97} Las tasas de 17OHP pueden estar también elevadas en ciertos tumores y en otros déficits enzimáticos, como el déficit de 11 β OH y de 3 β -HSD.

Igualmente existe un exceso de androstendiona y testosterona, así como de los metabolitos urinarios de los andrógenos suprarrenales. La ACTH, Δ 4-androstendiona y testosterona también están elevadas.

En las formas con pérdida de sal, la renina plasmática está incrementada. La aldosterona es variable, ya que puede estar disminuida o aumentada, incluso en las formas con pérdida salina, pero sólo tiene valor al relacionarla con el grado de aumento

de la actividad renina plasmática. La relación aldosterona/renina estará siempre disminuida por la gran elevación de la renina⁹.

En las formas no clásicas, el bloqueo es menos severo y la acumulación de 17OHP puede ser muy variable. Los niveles basales de 17OHP pueden no diferir de los valores normales, pero suelen estar elevados durante el pico diurno de producción de cortisol, por lo que los valores de la primera hora de la mañana suelen ser los más informativos^{98,99}.

En las formas no clásicas, el diagnóstico depende de la demostración de niveles de 17OHP anormalmente elevados a los 60 minutos de la administración de ACTH sintética^{9-11,51,74,93}.

1.10.4. Tratamiento

El principio básico del tratamiento debe ser dirigido de manera específica contra la causa subyacente del problema. De este modo, la administración de glucocorticoides sustituye la deficiencia de cortisol y disminuye la liberación de ACTH, mejorando los efectos nocivos dependientes de andrógenos. Si el defecto enzimático lleva asociado además una alteración en la síntesis de mineralocorticoides, se debe añadir un esteroide retenedor de sal para mantener un balance adecuado de electrolitos. Otra parte significativa del tratamiento es la quirúrgica, con la clitoridoplastia y vaginoplastia y un soporte psicológico adecuado^{98,100,101}.

a) Tratamiento sustitutivo con glucocorticoides

La terapia con glucocorticoides es la piedra angular del tratamiento en la HSC.

Todos estos pacientes deben ser tratados con glucocorticoides, ya que así se suprime el exceso de secreción de CRH y ACTH y reduce el exceso de esteroides sexuales de origen adrenal.

En los niños, la terapia de elección es la hidrocortisona, que es equivalente al cortisol. Un tratamiento excesivo y precoz con glucocorticoides es potencialmente nocivo para el crecimiento. Un índice de masa corporal elevado durante la infancia se correlaciona con peor talla final y puede ser un buen marcador de hiperdosificación^{98,100,101}.

Adolescentes mayores y adultos pueden ser tratados con dosis moderadas de prednisona o dexametasona. Son análogos de la hidrocortisona pero más potentes y de una acción más duradera. Los pacientes deben ser rigurosamente controlados en busca de signos de Cushing iatrogénico, como ganancia excesiva de peso, hipertensión, estrías y osteopenia, entre otros¹⁰².

En los pacientes con HSC no clásica está indicado iniciar tratamiento con glucocorticoides a dosis bajas, generalmente a la mitad de dosis que en las formas clásica, cuando aparezcan los signos de exceso de andrógenos, como pubarquia precoz y aceleración de la edad ósea, por el riesgo de una talla final baja^{12,103,104}.

Otras indicaciones frecuentes de tratamiento son hirsutismo, oligomenorrea y acné en mujeres jóvenes. Las pacientes con infertilidad, diagnosticadas de HSC no clásica, deberían recibir tratamiento para conseguir un embarazo. El tratamiento con glucocorticoides suprime la producción de andrógenos suprarrenales, resultando en una mejoría gradual de los signos clínicos de exceso de andrógenos y en una normalización de la función ovárica^{12,105}.

b) Tratamiento sustitutivo con mineralocorticoides

Los pacientes con pérdida salina requieren: la administración de un mineralocorticoide, el más utilizado es la 9- α -fluorhidrocortisona (9 α -F), y suplementos de cloruro sódico, durante el primer año de vida. El mineralocorticoide sólo es útil si el riñón recibe suficiente sodio y, por ello, es necesario el suplemento de sal.

Aunque los pacientes con la forma virilizante simple secretan una cantidad adecuada de aldosterona, necesitan tratamiento con 9 α -F, ya que presentan cifras elevadas de renina y podrían sufrir alguna crisis de pérdida salina en situaciones especiales. Además la renina, en los pacientes con déficit de 21OH, está estrechamente relacionada con el nivel de ACTH, de esta manera en los pacientes sin pérdida de sal pero con renina elevada se puede optimizar el tratamiento añadiendo un mineralocorticoide que hará que se requieran dosis de glucocorticoides¹⁰⁶⁻¹¹⁰.

La renina también se utiliza para monitorizar el tratamiento sustitutivo con 9 α -F y el suplemento de sal. Los signos que indican sobredosificación son hipertensión,

taquicardia y renina suprimida. Una dosificación excesiva de 9α -F también puede retrasar el crecimiento^{100,101}.

c) Crisis de pérdida salina

Este cuadro suele ocurrir a partir de los días 7-10 del nacimiento en las formas que pierden sal y en los pacientes ya diagnosticados, en situación de estrés o de enfermedad intercurrente aguda⁷⁶. Es una situación grave, que entraña riesgo vital para el enfermo si no recibe, en pocas horas, tratamiento adecuado. Es característica la deshidratación, preferentemente extracelular, con hipotensión, hiponatremia, hiperpotasemia, acidosis metabólica y tendencia a la hipoglucemia. Esta situación obliga a un tratamiento y monitorización intensiva con el fin de restablecer los desórdenes hidroelectrolítico-metabólicos¹⁰⁸. El tratamiento farmacológico de urgencia busca:

- Expandir el volumen extracelular: rehidratación con suero fisiológico isotónico en las dos primeras horas.
- Reponer el sodio perdido con suero glucosalino en función del nivel de sodio en plasma.
- Corregir la hipoglucemia: si fuera preciso con perfusión de glucosa.
- Tratamiento con glucocorticoides.
- Tratamiento con mineralocorticoides.
- Si existe acidosis metabólica: se podrá usar en las primeras horas perfusión en forma de bicarbonato.

d) Situaciones de estrés

Los pacientes con HSC clásica no pueden afrontar una respuesta suficiente de cortisol al estrés y requieren dosis superiores de su tratamiento en situaciones de enfermedades febriles y de cirugía mayor¹⁰¹.

e) Tratamiento quirúrgico de los genitales ambiguos

La actitud terapéutica se inicia con la asignación precoz del sexo, a ser posible en la etapa neonatal, lo que obliga a un diagnóstico precoz. Pasados los dos primeros años de vida cualquier cambio de sexo puede crear graves problemas psico-sexuales en el paciente y también trastornos en su familia. La asignación de sexo recomendada debería ser la del sexo genético/gonadal, por la posibilidad de mantener la función reproductora.

Esto es especialmente importante en las mujeres ya que tienen unos genitales internos normales y potencialmente pueden tener hijos^{85,98,101,111}.

f) Tratamiento prenatal

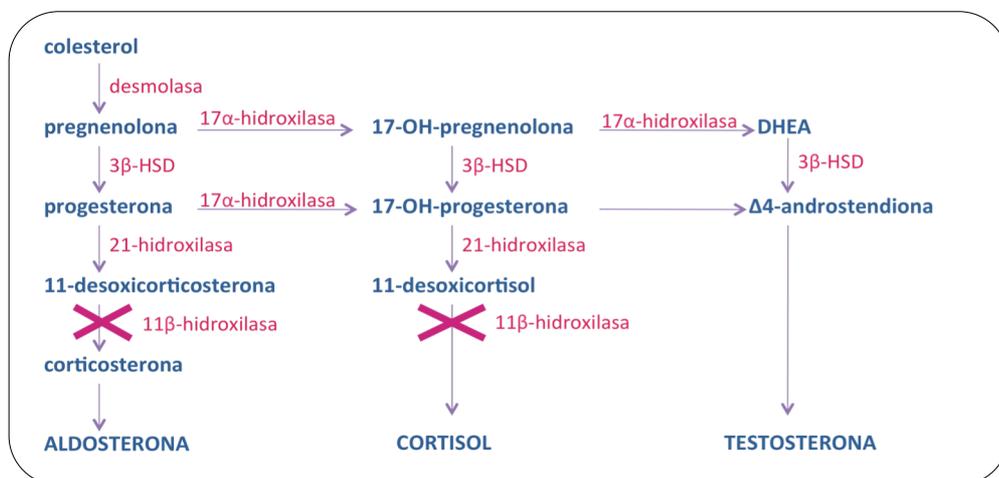
En las gestaciones con riesgo de tener un hijo afecto de HSC virilizante se ha conseguido frenar la producción de andrógenos suprarrenales fetales y disminuir la ambigüedad genital administrando dexametasona a la madre gestante^{112,113}.

Aproximadamente, el 70% de los fetos femeninos tratados nacen con genitales normales o mínimamente virilizados. Sin embargo, se han descrito fallos en los resultados del tratamiento en pacientes afectados que han precisado reconstrucción quirúrgica y que han sido atribuidos a un inicio tardío, a interrupción del tratamiento en mitad de la gestación, a incumplimiento terapéutico o a dosis subóptimas^{92,114,115}.

1.11. DÉFICIT DE 11β-HIDROXILASA

El déficit de 11βOH es la segunda forma más frecuente de HSC y supone el 3-5% de las mismas.

Figura 17. Bloqueo enzimático de 11βOH.



Existe una deficiente conversión de 11-desoxicortisol y 11-desoxicorticosterona en cortisol y corticosterona, respectivamente. Esto produce un déficit de cortisol y una elevación de la ACTH, que secundariamente produce una hiperplasia suprarrenal y un

acúmulo de andrógenos suprarrenales. El acúmulo de esteroides con actividad mineralocorticoide produce hipertensión y disminución de la renina¹¹⁶.

1.11.1. Fisiopatología

Existen dos isoenzimas de $11\beta\text{OH}$ ¹¹⁷:

- la **aldosterona sintetasa** (también llamada P450c18 o P450cAldo) con acción aldosintetasa, regulada por el sistema renina-angiotensina, que se expresa exclusivamente en la zona glomerular,
- y la **11 β OH**, que tiene acción 11β -hidroxilasa, regulada por la ACTH, que se expresa en las zonas fasciculada y reticular.

Estas isoenzimas catalizan en la corteza suprarrenal la última etapa de la biosíntesis de aldosterona en la zona glomerular y del cortisol en la zona fascicular y reticular. Están codificadas por dos genes diferentes, ambos localizados en el cromosoma 8q21-q22, CYP11B1 es el gen que codifica a la $11\beta\text{OH}$ y CYP11B2 a la aldosterona sintetasa¹¹⁸.

En la *zona glomerular*, la enzima aldosterona sintetasa posee las tres actividades necesarias para la síntesis de aldosterona: tiene actividad $11\beta\text{OH}$ para transformar la desoxicorticosterona en corticosterona, actividad 18-hidroxilasa (corticosterona metiloxidasa I o CMO I) para la transformación de corticosterona en 18-hidroxicorticosterona y, finalmente, actividad 18-oxidasa (corticosterona metiloxidasa II o CMO II) para la transformación de 18-hidroxicorticosterona en aldosterona. Los déficits de CMO I o CMO II, conocidos genéricamente como **déficit de aldosterona sintetasa**, se deben a mutaciones en el gen CYP11B2 y producen un déficit de aldosterona. En el déficit de aldosterona sintetasa las manifestaciones clínicas se limitan a un síndrome de pérdida salina más leve que en las formas clásicas de déficit de 21OH ; no hay déficit de cortisol y no constituye una HSC propiamente dicha.

Por el contrario, en la *zona fascicular y reticular* la otra enzima cataliza el paso de 11-desoxicorticosterona a corticosterona y de 11-desoxicortisol a cortisol. Esta enzima tiene una gran actividad $11\beta\text{OH}$ pero muy poca 18-hidroxilasa y carece de 18-oxidasa, por lo que no es capaz de sintetizar aldosterona^{116,119}.

La HSC por **déficit de 11 β OH** se debe a mutaciones en el gen CYP11B1, que codifica la isoenzima 11 β OH, y se traduce por un aumento de los niveles plasmáticos del precursor del cortisol (11-desoxicortisol) y de la corticosterona (11-desoxicorticosterona).

Este bloqueo produce la disminución del cortisol que conlleva un aumento de ACTH y un incremento de los precursores 11-desoxicortisol, 17OHP y 17-OH-pregnenolona, que por acción de la 17,20-desmolasa son derivados a la síntesis de esteroides sexuales (androstendiona, DHEA) que, a su vez, se convierten en testosterona.

El bloqueo también produce un aumento de 11-desoxicorticosterona en la zona fascicular (no en la glomerular). Este metabolito es un potente retenedor de sal, lo que hace que estos cuadros no produzcan pérdidas de sal a pesar de producirse menos aldosterona.

Como la 11-desoxicorticosterona tiene actividad mineralocorticoide, los pacientes afectados presentan en la mayoría de los casos hipertensión, hipokalemia e hipoaldosteronismo secundario a la supresión del eje renina-angiotensina. Sin embargo, la síntesis de aldosterona no está directamente afectada ya que la enzima aldosterona sintetasa se produce con normalidad y es funcional¹²⁰.

Puede haber pérdida salina en período neonatal por insensibilidad del túbulo renal a la desoxicorticosterona y al efecto antialdosterona del exceso de 17OHP.

1.11.2. Clínica

La clínica del déficit de 11 β OH no difiere de la del déficit de 21OH más que por el hecho de que existe una acumulación de desoxicorticosterona y de sus metabolitos con actividad mineralocorticoide, por lo que no presentan pérdida salina y sí tendencia a la hipertensión^{9,116,121}.

a) Forma clásica

Aproximadamente el 75% de los pacientes con déficit de 11 β OH presentan hipertensión arterial. La mayor parte de los neonatos no tienen hipertensión ni supresión de los niveles de renina, siendo a lo largo de la primera infancia cuando se desarrolla la hipertensión. Se piensa que se debe al acúmulo de desoxicorticosterona; sin embargo, no se encuentra una buena correlación entre los niveles de desoxicorticosterona y la

hipertensión, e incluso la hipertensión puede persistir a pesar de suprimir los niveles de desoxicorticosterona con el tratamiento glucocorticoideo. Por todo ello, se especula que los metabolitos de la desoxicorticosterona son los verdaderos responsables de la hipertensión¹²².

Las mujeres afectadas nacen con virilización de los genitales externos de mayor o menor intensidad en función de la severidad del déficit y motivado por el aumento de andrógenos suprarrenales durante la época fetal. Las gónadas y los genitales internos son normales, acordes con el sexo cromosómico, por lo que son pacientes potencialmente fértiles.

Durante la infancia se presentan los signos típicos de hiperandrogenismo, con un cuadro clínico de pseudopubertad precoz con aceleración del crecimiento y de la maduración ósea, que puede motivar una talla final baja, pubarquia adelantada, acné, vello corporal y, en el niño, aumento de la longitud del pene con testículos de pequeño volumen^{123,124}.

b) Forma no clásica

La forma no clásica de déficit de $11\beta\text{OH}$ es muy rara y comprende la misma sintomatología que en el déficit de 21OH . Los pacientes nacen con genitales externos normales y acordes con el sexo genético, si bien en ocasiones las mujeres afectas pueden presentar una hipertrofia de clítoris. Se presentan con signos y síntomas de hiperandrogenismo en la infancia tardía o en la edad de la adolescencia. Tienen una tensión arterial normal o como mucho moderadamente elevada^{116,120,125}.

1.11.3. Diagnóstico

El diagnóstico del déficit de $11\beta\text{OH}$ se confirma por un aumento de los niveles plasmáticos de 11-desoxicortisol y de 11-desoxicorticosterona, bien basales o tras estímulo con ACTH. Muchas veces no es necesario realizar un test de ACTH ya que la elevación de 11-desoxicortisol es muy importante¹²⁶. La eliminación de 17-cetoesteroides por orina está elevada como corresponde al acúmulo de los precursores de los andrógenos suprarrenales. Debido al incremento de los niveles de desoxicorticosterona y de sus metabolitos con acción mineralocorticoide, la renina está baja y los niveles de

aldosterona están disminuidos a pesar de que la vía enzimática de la síntesis de aldosterona está respetada¹²⁷.

La moderada elevación de 17OHP, aunque siempre menor que la elevación de 11-desoxicortisol, en ocasiones ha llevado a la realización de un diagnóstico erróneo de déficit de 21OH^{9,127,128}.

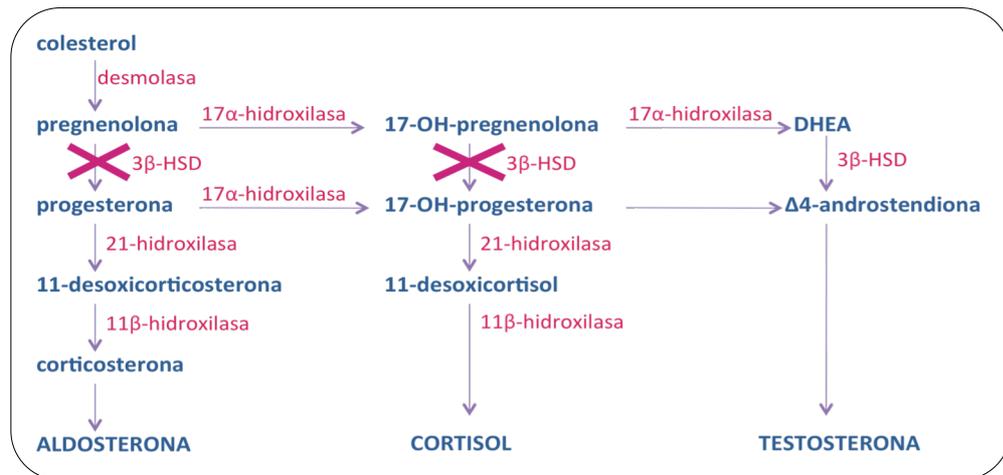
1.11.4. Tratamiento

El tratamiento es similar a la HSC por déficit de 21OH y consiste en la administración de glucocorticoides y en la corrección quirúrgica de los genitales ambiguos; no precisan tratamiento con mineralocorticoides. En aquellos casos en que la hipertensión sea de larga evolución es posible que el tratamiento con glucocorticoides no consiga normalizar la tensión arterial; en estos casos es necesario el uso de antihipertensivos. Estos fármacos actúan bloqueando la acción de los mineralocorticoides. Si no son suficientes para controlar la hipertensión arterial se utilizan bloqueadores de los canales de calcio.

En el déficit de aldosterona sintetasa se administra un mineralocorticoide y, durante el primer año, suplementos salinos^{100,101,128,129}.

1.12. DÉFICIT DE 3 β-HIDROXIESTEROIDE DESHIDROGENASA

A diferencia de las dos formas más frecuentes de HSC, déficits de 21OH y de 11βOH, el déficit de 3βHSD afecta a la síntesis de todos los esteroides, por lo que existe un defecto en la producción de aldosterona, cortisol, andrógenos y estrógenos, tanto a nivel de la suprarrenal como de las gónadas. La forma clásica representa el 2% de HSC. La forma no clásica es menos rara⁹.

Figura 18. Bloqueo enzimático de 3 β HSD.

1.12.1. Fisiopatología

La conversión de los 3 β - Δ 5 esteroides en Δ 4-3-cetoesteroides, configuración que poseen todos los esteroides fisiológicamente activos, se realiza por el complejo enzimático denominado 3 β HSD con actividad Δ 5- Δ 4 isomerasa. De esta manera, los Δ 5-precusores como pregnenolona, 17-hidroxi pregnenolona, DHEA y Δ 5-androstenediol son transformados, respectivamente, en progesterona, 17OHP, Δ 4-androstenediona y testosterona.

En el ser humano se han identificado dos isoenzimas 3 β HSD que se han denominado cronológicamente tipo I y tipo II; comparten un 93.5% de homología y están codificadas por dos genes que se localizan en el cromosoma 1p13.1. El gen de la 3 β HSD tipo I, denominado 3BHSD1, se expresa principalmente en los tejidos periféricos como hígado placenta, próstata y glándula mamaria, y el gen de la 3 β HSD tipo II, denominado 3BHSD2, se expresa exclusivamente en glándulas suprarrenales, ovarios y testículos. Esto permite que el déficit enzimático que impide la síntesis de cortisol, aldosterona y esteroides sexuales en suprarrenal y gónadas esté compensada, aunque de forma incompleta por la 3 β HSD hepática.

Debido a este bloqueo enzimático no hay conversión a progesterona y, por tanto, no hay síntesis de aldosterona, habiendo una pérdida salina. La actividad renina-angiotensina estimula la zona glomerular y aumenta en plasma la pregnenolona.

No hay paso de 17-OH-pregnenolona a 17OHP y, por consiguiente, se encuentra déficit de cortisol, hipersecreción de ACTH que produce un aumento de 17-OH-pregnenolona en sangre.

En corteza suprarrenal y gónadas hay un bloqueo en el paso de DHEA a androstendiona y, por tanto, una disminución de síntesis de testosterona y estradiol; pero, por el estímulo de ACTH, se produce un aumento de DHEA y androstendiol que, por conversión periférica en hígado y placenta, producen androstendiona y testosterona¹³⁰⁻¹³³.

1.12.2. Clínica

La forma clásica de déficit de 3 β HSD es la forma más severa de presentación, ya que comprende déficit de cortisol, aldosterona, andrógenos y estrógenos.

Puede presentarse con una crisis severa de pérdida salina de debut neonatal.

Los niños con sexo genético masculino presentan una insuficiente masculinización por defecto de la síntesis de testosterona a nivel del testículo fetal y se presentan clínicamente con un cuadro de PHM, con micropene e hipospadias, y pérdida de sal.

En las mujeres se describe clásicamente la presencia de virilización intraútero, por lo que pueden presentar al nacimiento un grado leve de virilización, como hipertrofia de clítoris o fusión labial posterior debida a la transformación periférica de la DHEA en androstendiona y testosterona, producida por la 3 β HSD tipo I de hígado que resulta insuficiente para la virilización masculina.

La presentación clínica de la forma no clásica de déficit de 3 β HSD es semejante a otras formas no clásicas de HSC, con un cuadro de hiperandrogenismo de aparición postnatal. Se puede presentar como una pubarquia precoz en niños de ambos sexos, acné, aceleración de la edad ósea y en la edad adulta con irregularidades menstruales e infertilidad.

La sintomatología es secundaria al aumento de DHEAS que produce androgenización débil (sin alteración de cortisol y aldosterona)¹³⁴⁻¹³⁸.

1.12.3. Diagnóstico

El diagnóstico de las formas clásicas se realizará en base al perfil hormonal en el que destaca un acúmulo significativo de los $\Delta 5$ -esteroides, especialmente de 17-hidroxi-pregnenolona, DHEA y DHEAS, pero también de la pregnenolona y del $\Delta 5$ -androstenediol así como el cociente $\Delta 5/\Delta 4$ ⁹.

En las formas clásicas, estos metabolitos están elevados significativamente para la edad y sexo; posiblemente el mejor marcador sea la elevación de las tasas basales y tras estímulo con ACTH de la 17-hidroxi-pregnenolona. El cortisol puede ser normal pero no aumenta tras el test de ACTH; paralelamente, los niveles de ACTH pueden estar normales o moderadamente elevados.

En las formas con pérdida salina, la aldosterona está disminuida y los niveles de renina elevados, mientras que en las formas sin pérdida salina la renina plasmática puede estar normal o elevada. Sorprendentemente, las tasas plasmáticas de los $\Delta 4$ -esteroides, 17OHP, androstendiona y testosterona, pueden estar normales e incluso por encima de lo normal para la edad y sexo; ello se debe a la conversión periférica extragonadal y extraadrenal de los $\Delta 5$ -esteroides por acción de la 3β HSD tipo I^{132,139,140}.

1.12.4. Tratamiento

El tratamiento del déficit de 3β HSD es similar al déficit de 21OH y dependerá de si se trata de una forma clásica o no clásica y de si cursa con pérdida salina o sin ella.

Consiste en la sustitución con glucocorticoides y mineralocorticoides, administración de suplementos salinos, corrección quirúrgica de los genitales ambiguos y tratamiento con esteroides sexuales en la edad puberal^{100,101}.

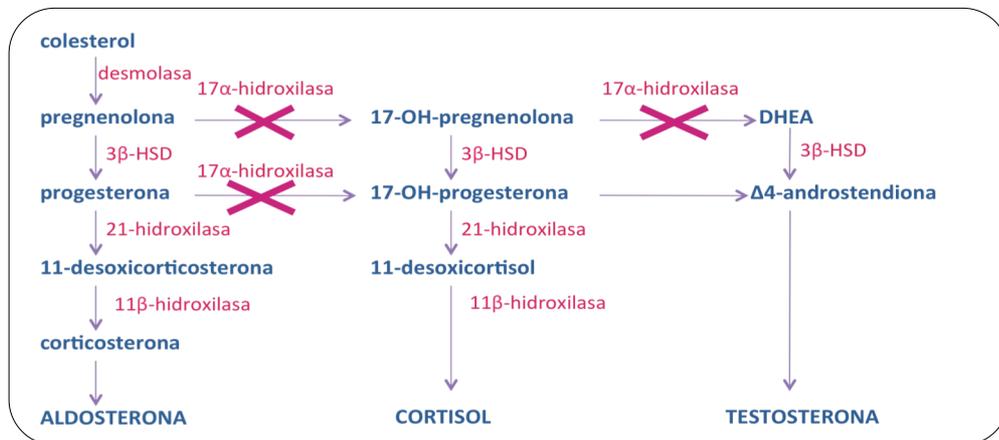
1.13. HSC POR DÉFICIT DE 17 α -HIDROXILASA

El déficit de 17 α OH es una forma muy poco frecuente de HSC y su frecuencia se estima inferior al 1%. Se afecta la vía de los glucocorticoides y de los esteroides sexuales en suprarrenal y gónadas.

El citocromo P450c17 representa un papel clave en la orientación de la pregnenolona y progesterona hacia las diferentes clases de esteroides. Tiene dos

actividades enzimáticas distintas: la 17 α OH y la 17,20-desmolasa. Está codificado por un gen único (CYP17) localizado en el cromosoma 10q23.1, que se expresa en suprarrenales y gónadas^{9,141-144}.

Figura 19. Bloqueo enzimático de 17 α OH.



1.13.1. Fisiopatología

Se puede hacer una diferenciación entre el déficit de la actividad 17 α OH y el de la 17,20-desmolasa¹⁴⁵⁻¹⁴⁸.

a) Déficit de actividad 17 α OH

Debido a este bloqueo no se sintetiza el 11-desoxicortisol y, por tanto, tampoco el cortisol. La hipersecreción secundaria de ACTH produce el aumento de pregnenolona y progesterona. No se presentan síntomas importantes de déficit de cortisol, ya que se compensa por la producción exagerada de corticosterona que tiene acción glucocorticoide.

Hay una mayor síntesis de desoxicorticosterona, corticosterona y 18-hidroxicorticosterona en la zona fascicular, la elevación de desoxicorticosterona con acción mineralocorticoide produce hipertensión, que se establece lentamente, e inhibición del sistema renina-angiotensina por lo que la aldosterona está disminuida. Al no existir pérdida salina no se pone en riesgo la vida del paciente^{149,150}.

No se sintetiza DHEA, androstendiona, testosterona ni estrógenos. El sujeto genéticamente masculino se presenta con ambigüedad genital de grado variable. En el

sujeto genéticamente femenino el fenotipo es femenino y se presentará con infantilismo sexual y ausencia de adrenarquia y pubertad¹⁵¹⁻¹⁵³.

b) Déficit de actividad 17,20-desmolasa

Los déficits aislados 17,20-desmolasa, parecen ser excepcionales y se han descrito muy pocos casos. En sentido estricto, el déficit aislado de 17,20-desmolasa no es una HSC ya que no existe un defecto en la síntesis de cortisol ni hipersecreción de ACTH; el déficit afecta únicamente a la síntesis de andrógenos y estrógenos, mientras que la secreción de cortisol y de mineralocorticoides está indemne¹⁵³.

El patrón hormonal es muy característico con elevación de la 17OHP y 17-OH-pregnenolona, tanto basal como tras estímulo con ACTH, con tasas bajas de andrógenos como DHEA, androstendiona y testosterona¹⁵⁴.

1.13.2. Diagnóstico

El diagnóstico se realiza por los niveles descendidos de todos los esteroides posteriores a la 17 α OH, que no se incrementan tras la estimulación con ACTH, y elevación de la pregnenolona, progesterona, desoxicorticosterona y corticosterona con una respuesta fuerte tras la estimulación con ACTH. El test con dexametasona muestra un frenado de los esteroides adrenales y el test de hCG demuestra una respuesta insuficiente de testosterona^{106,155}.

1.13.3. Tratamiento

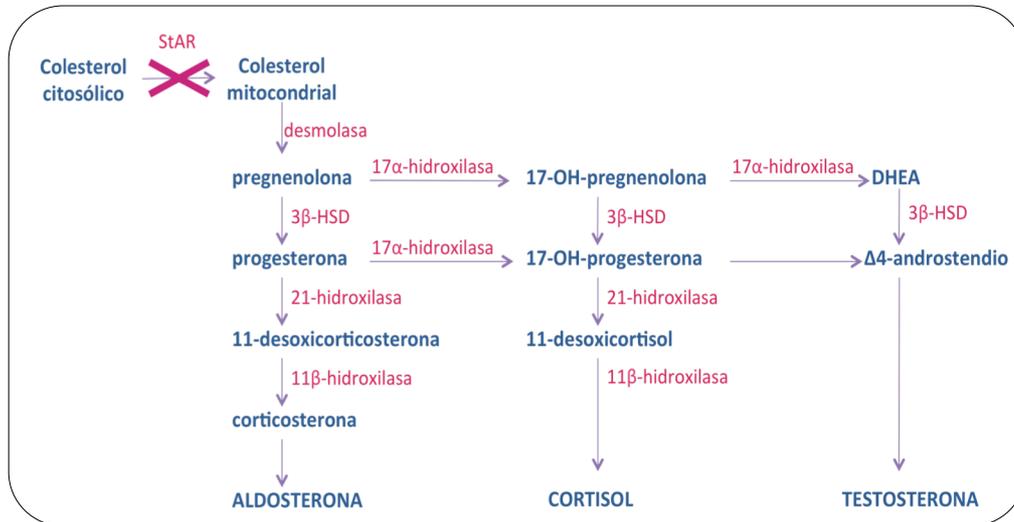
El tratamiento es sintomático como corresponde a un cuadro de hipogonadismo hipergonadotropo. La hipertensión se tratará de la misma manera que en la HSC por déficit de 11 β OH^{100,101,106}.

1.14. DÉFICIT DE LA PROTEÍNA StAR: HSC LIPOIDEA

La HSCL es la única forma de error innato de la síntesis de hormonas esteroideas que no está causada por un error enzimático en la esteroidogénesis, sino por un defecto en el transporte del colesterol a nivel intracelular.

El transporte del colesterol a la mitocondria es un paso importante de la esteroidogénesis y está regulado por la proteína StAR o proteína reguladora de la esteroidogénesis^{6,156}.

Figura 20. Bloqueo de StAR.



La expresión tisular de esta proteína se produce a nivel de glándulas adrenales, testículos y ovarios sólo en las células con actividad esteroidogénica. No se expresa ni en la placenta ni en otros tejidos esteroidogénicos. La StAR está regulada por la ACTH, LH y FSH y es indispensable para la síntesis de los esteroides. El mecanismo por el cual la StAR interviene en el transporte del colesterol al interior de la mitocondria no está todavía bien definido^{6,18,157}.

1.14.1. Fisiopatología

La HSC lipoidea (HSCL) es la forma más rara y más severa de HSC, siendo la forma clásica incompatible con la vida. Hasta la fecha han sido descritos muy pocos casos, ya que la gran mayoría fallecen en la época neonatal por insuficiencia suprarrenal grave con pérdida salina. Se altera la esteroidogénesis suprarrenal y gonadal^{17,19,158}.

La fisiopatología de la HSCL se explica por la incapacidad que tienen las glándulas suprarrenales y las gónadas para transformar el colesterol en pregnenolona, etapa inicial y limitante de la esteroidogénesis. De esta forma se produce un déficit de síntesis de:

- **Cortisol:** Induce una hipersecreción de ACTH que provoca sobrecarga lipoidea suprarrenal.

- **Aldosterona:** Responsable del síndrome de pérdida salina.
- **Esteroides sexuales** en suprarrenal y testículos, por lo que durante la vida fetal en el niño se produce ausencia más o menos completa de masculinización de los genitales externos. No hay restos müllerianos porque la hormona antimülleriana se conserva.

1.14.2. Clínica

Los niños afectados de HSCL presentan un desarrollo normal al nacimiento con peso, longitud y perímetro cefálico normales, indicando que los esteroides maternos, vía placentaria, son suficientes para las necesidades del feto. Presentan unos genitales externos femeninos, independientemente del cariotipo, ya que en los sujetos XY el defecto de la esteroidogénesis a nivel gonadal produce una ausencia de testosterona. Los pacientes XY presentan testículos intraabdominales y ausencia de las estructuras müllerianas, ya que las células Sertoli sintetizan con normalidad la hormona antimülleriana¹⁵⁹.

En el periodo neonatal inmediato presentan frecuentemente un cuadro grave (y muchas veces de evolución fatal si no se instaura un tratamiento inmediato) de pérdida salina con deshidratación, hipotensión y colapso. Analíticamente presentan hiponatremia, hiperkalemia, hipoglucemia y acidosis. Todo ello se presenta asociado a un incremento en el tamaño de las glándulas suprarrenales por acúmulo de colesterol intracitoplasmático.

En contraste con este patrón homogéneo de presentación clínica, la severidad y la edad de inicio de los síntomas de insuficiencia mineralocorticoide y glucocorticoidea pueden variar considerablemente. La mayor parte de los pacientes debutan con vómitos, fallo de medro, deshidratación, hipotensión y demás signos de pérdida salina en las primeras dos semanas de vida. Sin embargo, se ha descrito pacientes que sobrevivieron dos o tres e incluso seis meses sin tratamiento sustitutivo, presentando los signos clínicos tardíamente. La hiperpigmentación neonatal de mamilas, zona periumbilical o línea alba es un signo de hipersecreción de ACTH que se encuentra en el 75 % de los casos; aproximadamente un cuarto de los casos presentan hipoglucemia y distrés respiratorio neonatal, reflejando ambos una insuficiencia glucocorticoidea^{19,160,161}.

Al contrario de lo que ocurre en la suprarrenal y en el testículo, el ovario fetal está quiescente y carece de actividad esteroideogénica durante la edad fetal y en la prepubertad, permanece en una situación de reposo funcional hasta que se inicia la pubertad. La presencia de una esteroideogénesis parcialmente respetada a nivel ovárico, se explicaría por la existencia a nivel de los tejidos esteroideogénicos de una doble vía de transporte del colesterol a la mitocondria, una dependiente de la proteína StAR y otra independiente.

Como durante la infancia no se acumulan los ésteres de colesterol, la esteroideogénesis ovárica estará respetada. Cuando se inicia la pubertad se produce la estimulación cíclica de un folículo ovárico de manera individual y ello permite una esteroideogénesis ovárica mantenida por los mecanismos independientes de la proteína StAR. A partir de ese momento y conforme el ovario va siendo estimulado progresivamente se van a ir dañando los folículos y se va a producir un progresivo acúmulo de colesterol que resultará en una lesión del mecanismo no dependiente de la StAR, que finalmente determinará la aparición de un fallo ovárico con hipogonadismo hipergonadotropo. La presencia de ciclos anovulatorios puede facilitar el desarrollo de quistes de ovario y en algún caso evolucionar con riesgo de torsión ovárica¹⁶²⁻¹⁶⁵.

1.14.3. Diagnóstico

La sospecha clínica se fundamenta en un RN con genitales externos femeninos que debuta con una crisis de pérdida salina de manera casi fulminante. El diagnóstico bioquímico se fundamenta en la demostración de una disminución de las tres clases de esteroides: mineralocorticoides, glucocorticoides y andrógenos, tanto en orina como en plasma.

Los niveles de ACTH y renina están muy elevados mientras que los niveles de cortisol, 17-OH-pregnenolona, DHEAS, 17OHP, testosterona y androstendiona están disminuidos y no se incrementan con la administración exógena de ACTH^{165,166}.

Los niveles de aldosterona están disminuidos en relación a la importante elevación de la renina. Cuando se realiza un test de estimulación con ACTH o con hCG no se observa ningún incremento en la esteroideogénesis suprarrenal o testicular.

Los niveles de LH y FSH se encuentran elevados, más en los sujetos XY que en los XX, ya que existe una mayor afectación de la esteroidogénesis testicular que ovárica.

Habría que realizar un diagnóstico diferencial con otras formas de HSC, sobre todo con el déficit de 3β HSD y con el déficit de 21OH, pero especialmente con la hipoplasia suprarrenal congénita. El estudio del tamaño de la suprarrenal es útil ya que en la hipoplasia se encuentra muy disminuida, mientras que en la HSCL se encuentran aumentadas de tamaño por el acúmulo citoplasmático de los ésteres del colesterol, en el neonato, la ecografía suprarrenal es útil ya que se demostrará una hipertrofia muy llamativa de la glándula suprarrenal que, a diferencia de otras formas de HSC, no disminuye con el tratamiento sustitutivo^{167,168}.

1.14.4. Tratamiento

Se debe realizar, al igual que en el déficit de 21OH, tratamiento sustitutivo con glucocorticoides, mineralocorticoides y suplementos de sal en la primera infancia, con especial énfasis en la suplementación, en caso de aumento de las necesidades, para evitar la crisis de insuficiencia suprarrenal aguda^{100,101}.

1.15. CONCEPTO DE CRIBADO

Salud y enfermedad eran conceptos relativamente fáciles de explicar hasta hace algunas décadas y quedaba claro que la responsabilidad de la medicina era diagnosticar y curar las enfermedades, en la medida de lo posible.

En la actualidad, la prevención de las enfermedades, su diagnóstico precoz en aquellos que no muestran indicios de padecerlas y la identificación de aquellos individuos sanos que tienen factores de riesgo, congénitos o adquiridos, han contribuido a aumentar las expectativas de bienestar-salud que integran el nuevo concepto de la medicina actual.

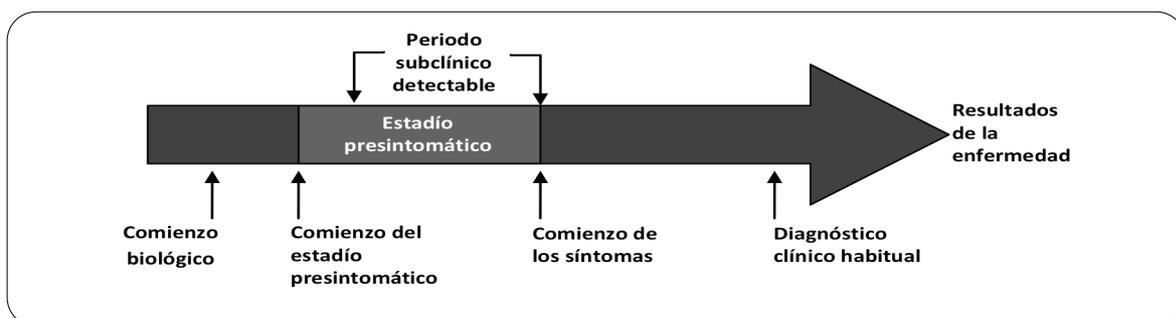
Los sistemas sanitarios modernos tienen como propósitos principales la promoción, la protección y la restauración de la salud. Estos propósitos resultan de una concepción de la salud que no es sólo, ni principalmente, la mera ausencia de la enfermedad. Por lo tanto, la salud puede mejorarse evitando o retrasando la aparición de enfermedades.

La medicina clínica, para cumplir con estos propósitos, actúa fundamentalmente en dos niveles: el primer nivel tiene por objetivo disminuir la probabilidad de que aparezcan afecciones y enfermedades. Para esto debe actuar en el periodo prepatogénico de la evolución natural de la enfermedad, antes de su comienzo biológico. Una vez que la enfermedad ya está presente, se debe pasar al siguiente nivel de prevención, con el que se pretende interrumpir la progresión de la enfermedad existente mediante un tratamiento precoz en la etapa presintomática ^{169,170}.

El instrumento utilizado para la detección precoz de la enfermedad en el periodo prepatogénico es el **cribado**, que se puede definir como *la aplicación de procedimientos de selección, a poblaciones de individuos aparentemente sanos, con objeto de identificar, en la fase de latencia, a aquellos que pueden estar enfermos o que presentan un riesgo incrementado de padecer una determinada enfermedad* ^{171,172}. Se trata de hacer una selección, es decir, de separar a aquellos individuos que pueden estar enfermos o en riesgo de padecer una determinada enfermedad de los que no lo están, y así lograr interrumpir la progresión de la enfermedad existente mediante un tratamiento precoz en la etapa presintomática, lo que puede mejorar el pronóstico de la afección e, incluso, evitar la muerte ¹⁷³.

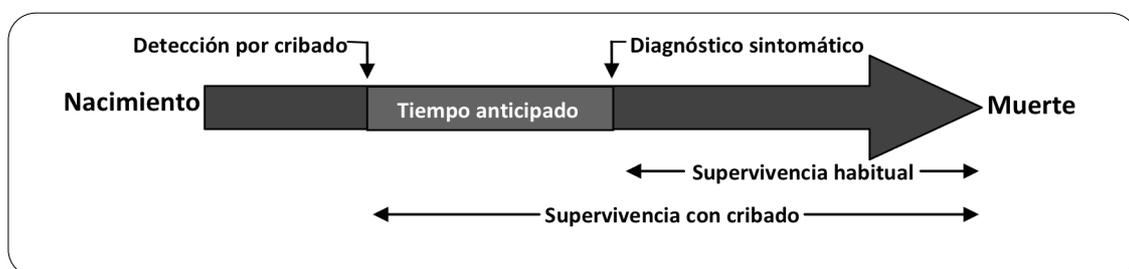
La **Figura 21** muestra el esquema de la historia natural de la enfermedad. Una vez han comenzado las alteraciones orgánicas debidas a la enfermedad, va a pasar un tiempo hasta que aparezcan los síntomas que habitualmente alertan al enfermo y le llevan a demandar atención médica. Ese intervalo es el momento en el que es posible llevar a cabo un diagnóstico precoz, siempre que existan signos detectables, como cambios en los parámetros bioquímicos en cualquiera de los líquidos orgánicos (sangre, plasma, orina,...).

Figura 21. Evolución natural de la enfermedad



Lo que se busca de esta manera no es la reducción de la incidencia de las enfermedades sino la mejora del pronóstico, sea mediante la curación o bien limitando la gravedad y las complicaciones. El adelanto del tratamiento debe aportar una mejora neta respecto de la que se proporciona en la fase clínica de la enfermedad. Y no es suficiente con la mera prolongación de la supervivencia, puesto que una parte del alargamiento es ficticio, es el denominado “tiempo anticipado”, periodo durante el cual sabemos, gracias a la detección precoz, que existe una enfermedad porque se ha hecho aflorar antes de tiempo.

Figura 22. Tiempo anticipado de una enfermedad al detectarla a través de un programa de cribado.



El reconocimiento precoz de la enfermedad provoca dos tipos de consecuencias:

- unas son negativas, puesto que una persona que hasta ese momento se consideraba sana, se convierte en enferma,
- las segundas son potencialmente positivas, porque al conocer con antelación la existencia de la enfermedad se puede instaurar un tratamiento precoz que resulte más eficaz.

Cualquier programa de cribado deberá asegurar que el beneficio en la población a la que se dirige sea superior a los daños que pudiera ocasionar {Sackett:1991us}, ya que hay que tener en cuenta que la mayoría de las personas que acuden al mismo, están sanas y sólo una pequeña proporción de ellas se benefician, mientras que otras sufren las consecuencias de un diagnóstico equivocado^{174,175}.

Tabla 9. Daños posibles ante un programa de cribado

Daños potenciales de la exposición a un programa de cribado
1.- En el transcurso de un programa de cribado se seleccionan individuos asintomáticos a los que se les ofrece una intervención que es incapaz de asegurar con una certeza del 100% la presencia o ausencia de una determinada enfermedad.
2.- Todos los participantes están potencialmente expuestos a sufrir ansiedad durante el proceso.
3.- Los individuos cuyo test resultó positivo son requeridos para someterse a una prueba diagnóstica que puede ser fuente de algún tipo de riesgo y no asegurar una mejora posterior en la calidad de vida, en el caso de que sea un falso positivo

1.15.1. Principios de los programas de cribado

En 1968, Wilson y Jungner¹⁷⁶ publicaron los requisitos que debían respetar las pruebas de detección precoz que, en términos generales, siguen siendo vigentes, aun habiéndose propuesto alguna adaptación posterior.

Tabla 10. Requisitos para un programa de cribado por Wilson y Jungner

Wilson y Jungner, 1968
Conocimiento de la enfermedad
– Debe ser un problema importante
– Las etapas latentes o la sintomatología inicial deben ser detectables
– La historia natural de la condición, incluyendo el desarrollo desde la fase de latencia a la de las manifestaciones debe comprenderse suficientemente
Conocimiento de la prueba
– La prueba o examen debe ser válida y reproducible
– La prueba debe ser aceptable para la población
– El proceso de búsqueda de casos debe ser continuo y único
Tratamiento de la enfermedad
– Aceptable para los pacientes diagnosticados
– Disponibilidad de recursos para el diagnóstico y tratamiento
– Acuerdo sobre el tratamiento de los pacientes
Consideraciones económicas
– El coste de la detección (incluido el del diagnóstico y tratamiento de los positivos) debe ser equilibrado en relación con el conjunto del gasto sanitario

En el 2003, el Comité Nacional de Cribado del Reino Unido¹⁷⁷ estableció unos nuevos criterios de evaluación de la viabilidad, la efectividad y la idoneidad de los programas de cribado, basados también en lo establecido por Wilson y Jungner¹⁷⁶. En el 2011, el mismo Comité{Criteriaforapprais:uy} realiza nuevas actualizaciones, en las que se

incluyen nuevos criterios adaptados a nuestros tiempos como la inclusión de pruebas genéticas en los programas de cribado.

Tabla 11. *Requisitos para un programa de cribado por Comité Nacional de Cribado del Reino Unido*

Comité Nacional de Cribado del Reino Unido
<i>La enfermedad</i>
<ul style="list-style-type: none"> – Deberá ser un problema importante de salud. – La epidemiología y la historia natural de la enfermedad deben ser suficientemente conocidas (desde su periodo de latencia hasta que ésta se declara), y debe existir un factor de riesgo detectable, un marcador de la enfermedad, un periodo latente o un estadio sintomático precoz. – Dentro de lo posible, todas las intervenciones coste-efectivas de prevención primaria deberían haberse implementado. – Si, como resultado del cribado, se identifica a los portadores de una mutación, la evolución de estos pacientes deberá ser conocida, incluyendo las implicaciones psicológicas.
<i>La prueba o test</i>
<ul style="list-style-type: none"> – Deberá existir una prueba que sea sencilla, segura y válida. – La distribución de los valores de la prueba o test en la población diana deberán ser conocidos, debiendo estar establecido un nivel o punto de corte apropiado. – La prueba deberá ser aceptable para la población. – Deberá existir un protocolo consensuado sobre el procedimiento diagnóstico de los individuos con un resultado positivo y sobre las opciones disponibles para éstos. – Si la prueba está dirigida a detectar mutaciones y no se pueden detectar todas las posibles mutaciones deben exponerse con claridad los criterios utilizados para seleccionar el subgrupo de mutaciones que se van a cribar.
<i>El tratamiento</i>
<ul style="list-style-type: none"> – Deberá existir un tratamiento o intervención efectiva para los pacientes identificados mediante la detección precoz, con evidencia de que el tratamiento prematuro conlleve mejores resultados que su aplicación posterior. – Deberá establecerse un protocolo consensuado, basado en el conocimiento científico, sobre el tratamiento apropiado y a qué individuos debe ofertarse. – El programa de cribado deberá tener la infraestructura necesaria para llevar a cabo el diagnóstico definitivo y el tratamiento de la enfermedad.
<i>El programa de cribado</i>
<ul style="list-style-type: none"> – Deberá existir suficiente evidencia de la eficacia del programa de cribado en la reducción de la mortalidad o la morbilidad, procedente de ensayos clínicos aleatorizados y controlados bien diseñados. – Deberá existir evidencia de que la totalidad del programa de cribado (prueba de cribado y confirmación diagnóstica, tratamiento/intervención) es aceptable clínica, social y éticamente, tanto para los profesionales como para la población general.

- El beneficio del programa de cribado deberá tener más peso que los daños físicos y psíquicos causados por la prueba, los procedimientos diagnósticos o el tratamiento.
 - El coste del programa de cribado deberá estar económicamente equilibrado en relación con el gasto total del Sistema de Salud.
 - Deberá existir un protocolo para dirigir y supervisar el programa de cribado con unos criterios que aseguren la calidad del mismo.
 - El personal y las instalaciones adecuadas para la realización de la prueba de cribado, el diagnóstico y el tratamiento deberán estar disponibles antes de la puesta en marcha del programa de cribado.
 - Deberán tenerse en cuenta todas las opciones de la enfermedad para asegurar que el programa no se salga del presupuesto.
 - Todos los participantes potenciales deberán tener disponible la información relativa a las consecuencias del cribado, la investigación y el tratamiento, de forma que le ayude a la hora de firmar el consentimiento informado.
 - Deberá preverse la posible presión pública para ampliar los criterios de elegibilidad, de reducción de los intervalos de cribado y de incremento de la sensibilidad de las pruebas. Las decisiones sobre estos parámetros deberán justificarse científicamente ante la población general.
 - Si el cribado se realiza para detectar una mutación, el programa debe ser aceptable tanto para las personas que vayan a ser identificadas como portadoras, como para sus familiares.
-

1.15.2. Cribado neonatal

El cribado neonatal es un caso especial dentro de los programas de cribado poblacional.

Se conoce como cribado neonatal al conjunto de actuaciones encaminadas a la detección sistemática de ciertas enfermedades en edad neonatal.

Las pruebas de cribado neonatal sirven para detectar a RN portadores de alguna patología endocrina, infecciosa o errores del metabolismo, antes de que la enfermedad se manifieste y para prevenir alguna discapacidad física, mental o la muerte. Se reduce de esta forma la morbimortalidad y las posibles discapacidades asociadas a esas enfermedades.

Se realiza así una búsqueda de los individuos de alto riesgo estudiando a toda la población y que, una vez identificados, requieren individualmente pruebas de confirmación y diagnóstico clínico y bioquímico¹⁷⁸.

El cribado neonatal accede a toda la población de RN y la incidencia de los trastornos endocrinometabólicos es muy baja. Por lo tanto, la inmensa mayoría de niños no va a recibir ningún beneficio por haber participado en el programa.

Sus participantes no son conscientes de que están siendo sometidos a este procedimiento y, por tanto, no acuden libremente al mismo, ni dan su consentimiento informado, ni sufren la angustia o el estrés que puede generar la incertidumbre ante la posibilidad de padecer una determinada enfermedad.

En este caso, son los padres del RN los que toman la decisión de que sus hijos se sometan a una determinada prueba de cribado, corriendo el riesgo de sufrir los potenciales daños inherentes a este proceso, como la ansiedad de poder tener un hijo con la enfermedad, en el caso de un resultado falso positivo (FP). Por otra parte, en el caso de que el niño no padezca la enfermedad pero sí sea portador de una mutación, puede que aparezca el estrés en los miembros de la familia, por lo que deberá proporcionarse tanto el consejo genético como el psicológico a todas las personas implicadas^{179,180}.

El cribado neonatal no es simplemente un test para identificar si la concentración de un metabolito está inusualmente elevado o disminuido en una muestra, sino que se trata de un completo programa que asegura que cada resultado anormal está vinculado a un test diagnóstico y, si está indicado, a un tratamiento con su seguimiento adecuado. Se trata de una actividad multidisciplinar cuya coordinación con el sistema sanitario asistencial resulta imprescindible para asegurar su eficacia y eficiencia¹⁸¹⁻¹⁸³.

1.15.3. Principios de los programas de cribado neonatal

Los requisitos que debe cumplir un programa de cribado neonatal están perfectamente definidos.

En 1975, el Comité de Cribado Neonatal para Errores del Metabolismo¹⁸⁴ postula los principios que debe cumplir una enfermedad para ser incluida dentro de los programas de cribado neonatal. En 1997, Pollitt *et al.*¹⁸⁵ también modificaron los principios de Wilson añadiendo referencias específicas al cribado neonatal. Finalmente, en el año 2006, se publicó un informe realizado por el American College of Medical

Genetics (ACMG) ¹⁸⁶ en el que, tras realizar un análisis de la literatura científica sobre la efectividad del cribado neonatal y recopilar opiniones de expertos, establecieron una serie de principios y recomendaciones para su desarrollo:

- El cribado neonatal universal es una responsabilidad esencial de los Servicios de Salud Pública para la mejora de los resultados de salud de los niños afectados.
- La política debería estar dirigida, en primer lugar, hacia el interés del RN afectado y, de forma secundaria, hacia los intereses de los niños no afectados, los familiares, los profesionales de la salud y la población en general.
- El cribado neonatal es mucho más que la realización de una prueba de cribado en sí. Es un sistema coordinado y exhaustivo, que conlleva una serie de aspectos como la educación, el propio cribado, el diagnóstico, el tratamiento y el manejo del paciente, su seguimiento a largo plazo, así como la evaluación del programa.
- Debe existir una estrecha relación entre los diferentes componentes del cribado (Atención Primaria, Especializada, laboratorios de determinación, etc.) para asegurar la confirmación de la prueba de cribado y el seguimiento y el cuidado apropiados de los RN identificados.
- Las recomendaciones sobre la idoneidad de unas patologías determinadas para la aplicación del cribado neonatal deberían basarse en la evaluación de la evidencia científica y en la opinión de expertos.
- Para que una enfermedad sea considerada de cara a su inclusión en un nuevo programa de cribado neonatal, debería cumplir los siguientes criterios:
 1. Ser identificada en un periodo de tiempo en el que no se detecta ordinariamente de forma clínica y antes de que se produzca un daño irreversible.
 2. Disponer de un test de cribado con una sensibilidad y una especificidad adecuadas.
 3. Existir beneficios demostrados de la detección precoz, de la intervención y del tratamiento.
- El programa de cribado debería comunicar otros resultados de importancia clínica.
- Es necesario centralizar los datos para evaluar longitudinalmente los programas específicos de cribado.

- El control de calidad debería aplicarse a todos los programas de cribado.
- El programa tendría que presentar políticas que aseguren el almacenamiento y el uso apropiados de las muestras.
- La concienciación pública, junto con la experiencia de los profesionales y la educación de las familias, son responsabilidades que deben formar parte de un programa de cribado neonatal completo.

El cribado neonatal debe llegar a un equilibrio entre los beneficios y los riesgos (Tabla 12) que conlleva para que sea aceptado en la población^{178,187}.

Tabla 12. Beneficios y riesgos de un programa de cribado neonatal.

Beneficios de cribado neonatal	Riesgos de cribado neonatal
– Detectar una enfermedad grave y tratable antes de que los síntomas estén presentes.	– Fallos en la identificación de algunos niños requiriendo repetición de las pruebas de cribado.
– Instaurar un tratamiento que puede prevenir serios problemas incluyendo retraso mental y muerte.	– Causar ansiedad a la familia después de resultados falsamente positivos.
– Detectar portadores de determinados desórdenes genéticos.	– Revelar a través de estudios genéticos la no paternidad del niño.

Los programas de cribado neonatal aportan otros beneficios para el sistema sanitario, además de los relacionados con las enfermedades objeto de cribado, entre los que se pueden citar como ejemplos¹⁸⁸:

- Centralización de base de datos perinatales completas del RN, con la recopilación de datos fundamentales, como el peso, pH, APGAR, la mortalidad, la lactancia, etc. Permite su utilización para programas de vacunaciones, actividades de evaluación epidemiológica, planificación de servicios, evaluación de la calidad en la oferta y demanda asistencial.
- La ejecución de otras acciones en Salud Pública, como son la educación sanitaria, otros programas como hipoacusia neonatal, garantizar la universalidad de dicha prestación y establecer una base de datos de todos los programas de cribado neonatal.
- la realización de estudios epidemiológicos mediante el sistema de anónimos no relacionables para conocimiento de la incidencia-prevalencia de enfermedades

infecciosas, como el virus de la inmunodeficiencia humana; estudios de bocio endémico; exposición a riesgos ambientales, como el plomo, estudios nutricionales,...

Todas estas acciones son una muestra del potencial de los programas de cribado neonatal como base de la calidad del estado del conocimiento y área de experiencia en el análisis de muestras clínicas dentro de la Salud Pública.

El cribado neonatal es un sistema de 5 partes:

Parte 1: Pruebas de los RN

A la hora de realizar las pruebas a los RN se debe ser consciente de que son muchos los factores que pueden influir en la variabilidad del analito a determinar como son: EG, peso al nacimiento, dieta, transfusión, nutrición parenteral,...

Por lo tanto, los resultados han de ser documentados teniendo en cuenta todos los factores que van a influir en nuestro test de cribado particular de manera oportuna.

Parte 2: Tratamiento de resultados anormales

Un adecuado seguimiento de los resultados del cribado “no normales” es crucial si la mortalidad, morbilidad y diferentes discapacidades quieren ser evitadas.

La función principal del programa de seguimiento es localizar los RN con resultados anormales en el cribado y facilitar una prueba de diagnóstico definitivo adecuado para cada caso.

El tiempo que se dispone para el diagnóstico final de los resultados anormales, varía dependiendo del grado de anormalidad del resultado de la prueba de cribado y del tipo de desorden metabólico que se está estudiando, hay enfermedades metabólicas como la HSC que pueden ser fatales a menos que se instaure el tratamiento correcto rápidamente.

Parte 3: Prueba diagnóstica

Muchos de los desordenes identificados mediante programas de cribado neonatal son muy heterogéneos. Esta variabilidad requiere una gran especialización en pruebas de laboratorio e interpretación. Se debe trabajar para obtener muestras, diagnósticos y tratamientos apropiados y una perfecta coordinación entre los distintos especialistas para el seguimiento del paciente una vez que el diagnóstico se ha confirmado.

Parte 4: Seguimiento

Los pacientes que sufren desordenes metabólicos detectados a través de un programa de cribado neonatal, normalmente requieren un control de su enfermedad a lo largo de toda su vida, que implica una infraestructura para coordinar el cuidado de estos pacientes, para ello se necesitan especialistas que conozcan perfectamente la etiología, patología, heterogeneidad clínica y cuestiones psicosociales asociados a la enfermedad.

En este seguimiento también estaría indicado el consejo genético para localizar portadores de la enfermedad en los distintos miembros de la familia y diagnóstico prenatal en futuros embarazos.

Parte 5: Evaluación

Un programa de cribado neonatal puede funcionar de manera óptima sólo cuando sus componentes están coordinados, lo que significa que debe haber una comunicación regular entre los laboratorios de cribado neonatal, pediatras y subespecialistas.

1.15.4. Cribado neonatal de la HSC

Hace aproximadamente dos décadas y con el fin de evitar las muertes por colapso y deshidratación, así como para prevenir la asignación equivocada de sexo a los fetos mujeres virilizados y prevenir también la secreción exagerada de andrógenos en la infancia que dará lugar a una talla final baja, se inició el cribado neonatal de los RN con la determinación de la 17OHP a partir de una gota de sangre obtenida en un papel de filtro¹⁸⁹⁻¹⁹¹. Los resultados de primer programa de cribado neonatal para HSC, llevado a cabo en Alaska, se publicaron en el 1977¹⁹².

La HSC es una enfermedad que, teóricamente, se adapta bien a la filosofía del cribado neonatal ya que es una enfermedad de prevalencia importante y potencialmente de evolución fatal que se puede diagnosticar mediante una simple determinación en sangre periférica. Su rápida identificación permite instaurar, de forma precoz, una terapia hormonal de sustitución que es altamente eficaz y permite una sustancial reducción de la mortalidad y la morbilidad.

La variabilidad en la deficiencia de la enzima defectuosa se refleja en el amplio espectro de síntomas que puede presentar el enfermo, desde una amenorrea primaria sin virilización, una virilización simple, hasta una presentación clásica con pérdida salina:

hiperkalemia e hipoglucemia, con virilización en mujeres. Un rápido diagnóstico al nacimiento es muy importante para evitar la muerte en crisis adrenales que pueden ocurrir después de aproximadamente siete días de vida o para hacer una correcta asignación de sexo a tiempo en las mujeres que presentan virilización de sus genitales¹⁹³.

Con el cribado de HSC se detectan las formas clásicas del déficit de 21OH, y aunque no sea su objetivo principal, también se pueden detectar formas no clásicas y las formas raras debidas al déficit de 11 β OH.

Por lo tanto, los objetivos principales del cribado neonatal para HSC quedan definidos como^{194,195}:

- Prevenir crisis de pérdida salina, pudiendo evitar así episodios de shock, daño cerebral e incluso la muerte.
- Prevenir la asignación de sexo masculino a mujeres nacidas con virilización de genitales.
- Prevenir los efectos progresivos del exceso de andrógenos suprarrenales, que causan baja estatura y alteraciones psicosexuales, tanto en niños como en niñas.

Beneficios adicionales que se obtienen del cribado neonatal para HSC son:

- Mejora en la detección de los casos de enfermedad, evidenciada por una mayor incidencia de la enfermedad en las poblaciones sometidas a este programa de cribado. Se debe a que antes de implantar el cribado para HSC morían niños sin saber que se debía a esta enfermedad.
- Mejora en la detección de pacientes con HSC en su forma de pérdida salina (70% mediante cribado neonatal para HSC frente a 43-60% en pacientes diagnosticados en base a síntomas clínicos)
- Mejora en la detección de RN varones, como pone de manifiesto la relación 1:1 en cuanto a sexo de los enfermos de HSC detectados mediante cribado, frente a la relación varones:mujeres de 0,6:1 si nos basamos en los síntomas clínicos para el diagnóstico. (Esto se debe a que las mujeres suelen presentar virilización de los genitales, por lo que se facilita el diagnóstico).

- El cribado neonatal para HSC está dirigido a detectar las formas graves de HSC, aunque algunas formas medias también pueden llegar a ser detectadas de esta manera.

1.15.5. Prueba analítica del cribado neonatal de HSC

El cribado neonatal para HSC va dirigido a la detección de las formas clásicas del déficit de 21OH, aunque secundariamente puede detectar formas no clásicas y defectos de 3 β HSD al producirse también aumento en los niveles de 17-OHP.

El estudio diagnóstico definitivo de las diferentes formas de HSC incluye un perfil hormonal de los esteroides suprarrenales y el estudio genético molecular.

El cribado para la deficiencia en 21OH se realiza mediante la medida de los niveles de 17OHP en sangre de talón del RN recogida sobre papel absorbente. La prueba de cribado se debe realizar rápidamente para diagnosticar la enfermedad antes de que aparezcan los síntomas de pérdida salina que podrían llevar a la muerte del RN. Hay que tener en cuenta que las muestras recogidas antes de las primeras 24 horas de vida presentan valores elevados de 17OHP que se van normalizando después, y las muestras recogidas a los 5-7 días de vida reducen los beneficios del cribado neonatal, por esto se ha de llegar a un equilibrio y el momento óptimo de la recogida de la muestra es entre el segundo y tercer día de vida. Tanto el soporte de la muestra a analizar como el momento de la extracción son los mismos que se utilizan para otras pruebas de cribado neonatal, por lo tanto, el cribado neonatal para HSC puede integrarse en cualquier programa de cribado neonatal¹⁹⁶.

Para la cuantificación de la 17-OHP se utilizan diferentes técnicas como el radioinmunoanálisis (RIA), enzimoimmunoanálisis (ELISA) o fluoroinmunoanálisis (FIA). Actualmente, tanto el RIA como el ELISA han sido sustituidos casi completamente por el DELFIA® (Dissociation Enhanced Lanthanide Fluorescent Immunoassay) procedimiento de fluoroinmunoanálisis a tiempo retardado¹⁹².

El análisis de 17OHP en sangre del neonato presenta grandes complicaciones, por diversos motivos. Los inmunoensayos producen un elevado número de falsos positivos, debido a las numerosas reacciones cruzadas con otros esteroides, al uso de muestras muy

precoces y a los altos niveles de 17OHP presentes en los niños prematuros o enfermos como consecuencia de situaciones de estrés. Esto obliga a usar puntos de corte ajustados por el peso, la EG e incluso la edad a la toma de muestra.

Uno de los principales retos a la hora de cuantificar la 17-OHP, es que no existen valores estándar aceptados de forma universal en la estratificación de los RN. Antes de iniciar un programa se deberá realizar un estudio piloto en el que se observen y analicen todos los puntos para posteriormente emplear los que mejor se ajusten al contexto del programa de cribado¹².

Aun así, todavía se produce un elevado número de falsos positivos y esta ha sido hasta ahora la principal razón de la incompleta introducción de los programas de cribado neonatal de la HSC⁶⁰.

1.16. ESTADO DE LA CUESTIÓN

El programa de cribado neonatal para HSC se ha ido ampliando a muchas regiones, pero aún existen ciertas controversias respecto al mismo por diversos motivos:

- hay casos en los que la manifestación clínica es anterior al resultado del cribado neonatal,
- el ensayo realizado para la cuantificación del biomarcador utilizado, 17OHP, presenta baja especificidad del anticuerpo y una elevada reactividad cruzada con otras hormonas presentes en la sangre del neonato.
- el biomarcador muestra una gran variabilidad y una tasa elevada de falsos positivos, particularmente en RN pretérmino, neonatos de bajo peso y RN enfermos^{12,193}.

La razón de que existan estos niveles más elevados de 17OHP en prematuros no está totalmente explicada. Existen publicaciones que indican que puede ser atribuible a la inmadurez de la función suprarrenal, a una función renal más pobre como resultado de la inmadurez fetal o a los mayores niveles de ACTH que presentan este grupo de neonatos como resultado del estrés que sufren¹⁹⁷⁻²⁰¹.

El problema de esta peculiaridad en los RN pretérmino, se refleja en la reducción de la especificidad del programa de cribado en este grupo, incrementándose así los

costes tanto económicos (debido a la repetición de pruebas y a la batería de análisis que se tienen que realizar para la confirmación de la enfermedad) como emocionales, para la familia del RN ante el estrés que provoca la incertidumbre de si su hijo sufre o no la enfermedad y la odisea diagnóstica a la que se tienen que someter hasta que finalmente se confirma o no¹².

Estas han sido hasta ahora las principales razones de la incompleta introducción de los programas de cribado neonatal de la HSC.

Por otra parte, el porcentaje de falsos positivos en prematuros se puede reducir ajustando el punto de corte de 17OHP según peso o EG al nacimiento, pero aún así la tasa de falsos positivos sigue manteniéndose más elevada en este grupo de neonatos que en el de los nacidos a término^{202,203}.

Por lo tanto, es importante conocer las causas que provocan la elevación de los niveles de 17OHP en prematuros y de qué forma influyen en sus concentraciones para poder optimizar el programa de cribado neonatal y reducir el porcentaje de falsos positivos evitando así los problemas que esto conlleva, asegurando que este aumento de especificidad no traiga consigo una disminución en la sensibilidad del programa, lo que provocaría que algún RN realmente enfermo no se detectase a través del cribado neonatal.

En 1994, The National Institute of Health²⁰⁴ publicó un documento consenso sobre los beneficios de la administración prenatal de corticosteroides para inducir la maduración pulmonar en la prevención del síndrome de distress respiratorio en los RN prematuros. Se ha observado que la administración de corticoides en el periodo prenatal provoca una estimulación de la citodiferenciación e induce la aceleración de la maduración del tejido sin alterar la secuencia normal del desarrollo. Más evidencias son que el tratamiento prenatal con corticoides no sólo reduce la incidencia del distress respiratorio, sino que también disminuye la incidencia de displasia broncopulmonar, hemorragia intraventricular e incluso la mortalidad en RN prematuros^{205,206}.

Está recomendada la administración de una dosis de corticoides entre las semanas 24 y 34 de gestación a todas las mujeres que presentan riesgo de parto prematuro. Ante la supuesta pérdida de eficacia del tratamiento después de 7 días, en muchas ocasiones si

no se ha producido el parto y continúa existiendo el riesgo de parto prematuro es común repetir el tratamiento, pero esta práctica está siendo criticada debido a que la repetición de dosis de corticoides puede reducir el peso al nacimiento y alterar el desarrollo cerebral²⁰⁷.

Otro de los posibles efectos adversos del tratamiento prenatal con corticoides es su interferencia con el cribado neonatal de HSC ya que los corticoides son supresores del eje HHS. El tratamiento prenatal con dexametasona en niñas que padecen HSC para evitar la virilización, tiene gran éxito al ser un supresor eficaz de la función adrenal fetal. Dado que la betametasona y la dexametasona tienen capacidad similar de atravesar la placenta, el uso de betametasona en los casos de parto prematuro podría reducir los niveles de 17OHP y provocar falsos negativos en el cribado neonatal de HSC^{207,208}.

1.17. HIPÓTESIS DEL ESTUDIO

1. Los niveles de 17OHP son mayores en RN pretérmino.
2. Existen diversos factores maternos, del parto, fetales como neonatales que pueden estar implicados en los niveles anormalmente elevados de 17OHP que presentan los RN dentro del contexto del cribado neonatal para HSC.

1.18. OBJETIVOS

1.18.1. Objetivo principal

Optimizar el programa de cribado neonatal para HSC de nuestro medio, ajustando correctamente los puntos de corte de 17OHP y analizando la influencia de diversos factores perinatales en los niveles de 17OHP de RN sometidos a cribado neonatal de HSC.

1.18.2. Objetivos específicos

1. Establecer una variable de estratificación, peso o EG al nacimiento, que proporcione un programa de cribado neonatal para HSC más eficaz, y ajustar los puntos de corte de 17OHP en función de dicha variable para reducir la tasa de falsos positivos.
2. Aplicar los nuevos puntos de corte a una nueva población de RN para analizar la eficacia de esta nueva estrategia y calcular la reducción de la tasa de falsos positivos.
3. Evaluar el rendimiento del programa de cribado de HSC optimizado.

4. Analizar los casos detectados de HSC comparándolos con formas no clásicas de la enfermedad y con RN que presentaron 17OHP elevada al nacimiento sin padecer la enfermedad.
5. Detectar y analizar la influencia de distintos factores perinatales en los valores anormalmente elevados de 17OHP, en RN que no padecen la enfermedad.
6. Estudiar el efecto que tiene el tratamiento prenatal con corticoides en los niveles de 17OHP.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. DISEÑO

Este trabajo consistió en un estudio observacional de diseño transversal, dividido en varias fases, en el que se evaluaron los niveles de 17OHP de los RN, cuantificados como parte de la prueba de cribado neonatal.

Este trabajo se estructuró de varios estudios:

1. Estudio de los niveles de 17OHP en población neonatal para la optimización del programa de cribado neonatal para la HSC debida al déficit de 21OH. (Objetivos 1 y 2).
2. Estudio del rendimiento diagnóstico del programa de cribado actual. (Objetivo 3).
3. Estudio de la evolución de aquellos casos que resultaron positivos en el cribado neonatal de HSC, tanto los verdaderos positivos como los falsos positivos. (Objetivo 4).
4. Estudio de factores perinatales que pueden influir en los niveles de 17OHP cuantificados en el cribado neonatal. (Objetivo 5).
5. Estudio del efecto del tratamiento con corticoides durante el embarazo, en los niveles de 17OHP de la población neonatal. (Objetivo 6).

2.2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.2.1. Programa de Cribado neonatal de la comunidad de Aragón

El programa de cribado neonatal para HSC desarrollado en el Hospital Universitario Miguel Servet se inició en febrero de 2003. En un primer momento este centro no realizaba el cribado neonatal de HSC a toda la comunidad de Aragón sino que se limitaba a los Sectores I y II de Zaragoza, Huesca y Teruel. En enero de 2011 se amplió la cobertura a toda la comunidad de Aragón y La Rioja. Se reciben muestras desde todos los centros sanitarios de Aragón y La Rioja con unidades de paritorios, tanto públicos como privados.

Al tratarse de una prueba universal que se aplica a todo RN vivo, no se requiere ninguna petición expresa para realizar el análisis.

La muestra de sangre se extrae entre las primeras 48-72 horas de vida y se remiten al laboratorio lo antes posible, el tiempo máximo permitido entre toma de muestra y recepción en el laboratorio es de 4 días.

Una vez que las muestras llegan al laboratorio se examinan para ver si son aptas para el análisis ya que existen unos requisitos mínimos para procesar adecuadamente las muestras recibidas, una incorrecta deposición de la sangre sobre el papel de filtro puede provocar que los resultados obtenidos sean difícilmente interpretables.

Cuando las muestras están verificadas se procede al análisis. Si los niveles de 17OHP están dentro de los límites de referencia se informa como normal, si están por encima del punto de corte, dependiendo de la EG, se solicita nueva muestra para confirmar los resultados. Si en la segunda muestra la concentración de 17OHP sigue estando elevada, se llama por teléfono a la Unidad clínica de referencia para localizar al niño y realizar las acciones oportunas para el diagnóstico definitivo. En el caso de RN prematuros extremos (EG < 33 semanas), de forma sistemática se realiza una nueva extracción de sangre y cuantificación de niveles de 17OHP a los 15 días de vida.

2.2.2. Población de estudio

La población empleada para el desarrollo de este trabajo comprende aquellos RN cuya prueba de cribado neonatal se realizó en el Hospital Universitario Miguel Servet desde enero de 2005 hasta mayo de 2015 y cuyos datos demográficos necesarios para el estudio fueron perfectamente registrados. Esta población consta de un total de 137.595 RN. Durante este periodo se modificó la metodología de cuantificación de la 17OHP, así, en las tablas **Tabla 13** **Tabla 14** se describe la población cribada para HSC en función de la sistemática empleada.

Tabla 13. Descriptivos de las variables cuantitativas la población de RN cribados para HSC.

	Variable	K-S (p)	n	Mediana	RIC
Enero 2005 Octubre 2008	17OHP	0.000	29089	15,30	10,90 – 21,40
	Peso	0.000		3210	2900 - 3510
	EG	0.000		39,40	38,2 – 40,2
Octubre 2008 Mayo 2015	17OHP	0.000	88483	7,34	5,15 – 11,51
	Peso	0.000		3240	2930 - 3540
	EG	0.000		39,4	38,3 – 40,3

Tabla 14. Descriptivos de la variable cualitativa de la población de RN cribados para HSC.

Sexo	Enero 2005 Octubre 2008	Octubre 2008 Mayo 2015
Femenino (%)	48,85	48,64
Masculino (%)	51,15	51,36

El grupo de RN que se utilizó en cada estudio individual es diferente, en cada apartado se detallarán sus características específicas junto con los resultados.

2.2.3. Variables del estudio

a) Variables cuantitativas:

- Concentración de 17OHP en prueba de cribado (nmol/L).
- EG al nacimiento (semanas).
- Peso al nacimiento (g).
- Concentración 17OHP en suero (ng/mL).
- Concentración de ACTH en plasma (pg/mL).
- Concentración de Cortisol en suero (µg/dL).

b) Variables cualitativas:

- Sexo (Masculino, Femenino).
- Edad a la extracción (<48 horas, 48-72 horas, 72horas - 7días, > 7 días).
- Número de dosis de corticoides suministradas a la madre. (0, ½, 1, >1).
- Días transcurridos entre la última dosis de corticoides suministrada y el nacimiento. (<7, 7-15, >15)
- Factores maternos y del parto (Ver **Tabla 15**).

Factores fetales (Ver

- **Tabla 16)**
- Factores neonatales (Ver **Tabla 17**).
- Otros factores perinatales (Ver **Tabla 18**).

Todos los factores perinatales se recogieron de las historias tanto del RN como de la madre. Al existir una gran variabilidad en los datos recogidos se clasifican por grupos para facilitar el manejo de toda la información. Se describen en las siguientes tablas.

Tabla 15. Factores maternos y del parto.

Patología de cordón	Arteria umbilical única Inserción velamentosa de cordón Vueltas de cordón Nudo de cordón Prolapso de cordón
Patología de placenta	Ruptura prematura de membranas Fisura bolsa amniótica Oligohidramnios sin ruptura de membranas Polihidramnios Cotiledón aberrante Anhidramnios hematoma subcorial Desprendimiento de placenta Placenta previa oclusiva Placenta previa con hemorragia Líquido amniótico meconial Corioamnionitis
Patología de útero	Útero bicorne Incompetencia cervical Cicatriz uterina de intervención quirúrgica anterior Embarazo extrauterino Conización cervical
Parto	Parto retardado después de ruptura espontánea de membranas Parto prematuro con inicio espontáneo de parto Parto precipitado Contracciones poco satisfactorias. Parto intermitente. Parto irregular Amenaza de parto prematuro Fallo de inducción Detención de fase activa de parto Problema postural del feto Fiebre intraparto Macrosoma. Desproporción fetopélvica
Embarazo	Mala historia obstétrica Intervención quirúrgica Metrorragia Hiperdatia
Enfermedad del embarazo	Síndrome Hellp Obesidad Diabetes gestacional Colestasis intrahepática Anemia
Estado hipertensivo del embarazo	Preeclampsia leve Preeclampsia grave Estado hipertensivo

Inseminación artificial	Gestación tras TRA Gestación tras IAC Gestación tras FIV
Enfermedad materna	Hipotiroidismo Epilepsia Enfermedad desmielinizante Miocardiopatía Trombofilia Tabaquismo Síndrome antifosfolípido Linfoma de Hedking Hepatitis Enfermedad de Crohn Dermopatía Bocio Asma

Tabla 16. Factores fetales.

Patología fetal	Riesgo de pérdida de bienestar fetal Síndrome de transfusión feto fetal Malformación fetal Hidronefrosis bilateral fetal Gemelo muerto intraútero Derrame pleural fetal Colpocefalia unilateral fetal Sospecha de aneurisma del septo auricular cardiofetal Anormalidad de la frecuencia o ritmo cardiaco fetal Ectasia piélica fetal
Marcador sufrimiento fetal	RCTG patológico NTS no tranquilizador Doppler patológico Bishop desfavorable

Tabla 17. Factores neonatales.

Sepsis	
Hipotensión arterial	
Hipotonía congénita	
Pérdida de bienestar fetal	
Encefalopatía	Microcefalia Hidrocefalia congénita Hidrocefalia posthemorrágica

	Encefalopatía Hemorragia intraventricular
Ictericia	Colestasis neonatal Ictericia no isoimmune Ictericia del prematuro Ictericia por lactancia materna Ictericia idiopática
Anemia	Anemia posthemorrágica aguda Anemia del prematuro Anemia postnatal, sin especificar
Patología cardíaca	Comunicación interventricular Foramen oval permanente Comunicación interauricular tipo ostium secundum Comunicación interauricular tipo ostium primum Ductus arterioso persistente Aneurisma septo auricular Hipertrofia de tabique interventricular Quiste periventricular Parada cardíaca Bradicardia sinusal Insuficiencia tricúspide Taquicardia paroxística supraventricular Derrame pericárdico fetal Extrasístole ventricular Insuficiencia cardíaca congestiva
Patología renal	Displasia renal multiquística Hidronefrosis congénita Insuficiencia renal aguada Ectasia piélica bilateral Ectopia renal
Patología digestiva	Reflujo gastroesofágico Síndrome de intestino corto Perforación intestinal Atresia del intestino delgado Ileo meconial Enterocolitis necrotizante Atresia esófago
Patología respiratoria	Distrés respiratorio Hipertensión Pulmonar secundaria Bronquiolitis Derrame pleural Hipoplasia pulmonar Válvulas uretra posterior Membrana hialina Neumonía congénita Enfisema intersticial

neumotórax
 Atelectasia
 Pulmón húmedo / Mal-adaptación pulmonar
 Displasia broncopulmonar
 Crisis de cianosis
 Apnea primaria
 Hipertensión pulmonar persistente
 Crisis de atragantamiento
 Neumonía postnatal
 Estenosis fisiológica de ramas pulmonares
 Quilotórax
 Persistencia del conducto arterioso
 Taquipnea transitoria

Tabla 18. Otros factores perinatales.

Tipo parto	Cesárea Instrumental Eutócico
Tipo alimentación	Dieta absoluta Artificial Materna Mixta
Ingreso	UCI Neonatología Maternidad
Puntuación APGAR	<4 4-7 >7

2.2.4. Muestras

a) Cribado neonatal

El tipo de muestra que se utiliza para la cuantificación de los niveles de 17OHP en el cribado neonatal es sangre total recogida sobre papel de filtro. El papel de filtro utilizado tiene características especiales y estandarizadas, extremadamente puro y homogéneo y con características óptimas de absorción, que permite una difusión homogénea de la muestra en el papel. Se empleó el papel de filtro Whatman 903. Estas tarjetas están ideadas especialmente para la recogida y la conservación in vitro de sangre de RN para los programas de cribado neonatal. Estos papeles son fabricados a partir de

fibras de algodón de alta pureza y son certificados para cumplir los requisitos de capacidad de absorción y consistencia entre lotes, de acuerdo al CLSI norteamericano (Clinical and Laboratory Standard Institute). Los parámetros especificados y controlados por el “Newborn Screening Quality Assurance Program” del CDC (Centres for Disease Control and Prevention) norteamericano son que el volumen de muestra absorbido en un disco de 3.2 mm sea de $3.42 \pm 0.38 \mu\text{L}$ de sangre, para la deposición de sangre con células intactas, y ajustado el hematocrito de la misma al 55%.

La extracción se realiza en la porción medial o lateral de la superficie plantar del talón. Se aplica un pequeño volumen de esta sangre capilar en la tarjeta y se deja secar a temperatura ambiente, la tarjeta ya está acondicionada para su transporte al laboratorio de análisis.

A la hora de preparar el ensayo se han de obtener unos discos de sangre con un diámetro de 3,2 mm. Estos discos se consiguen cortándolos del papel de filtro mediante un taladro automático. Este dispositivo permite cortar los discos para el análisis y su disposición ordenada en la placa de microtitulación utilizada para el análisis

Procedimiento de análisis

La detección de HSC se basa en la cuantificación de los niveles de 17OHP en la sangre del RN.

Para la cuantificación de los niveles de 17OHP se emplea la tecnología DELFIA (Dissociation Enhancement Lanthanide Fluoroimmunoassay). El sistema DELFIA empleado en el cribado neonatal engloba inmunoensayos basados en el principio de intensificación disociativa de la fluorescencia y en fluorimetría a tiempo retardado, siendo el Europio (Eu) el marcador de elección. El quelato inicial de Eu es un complejo no-luminoso, que se emplea para marcar antígenos o anticuerpos. Una vez finaliza la reacción antígeno-anticuerpo se añade una solución intensificadora que es capaz de liberar los iones de Eu^{3+} al medio acuoso.

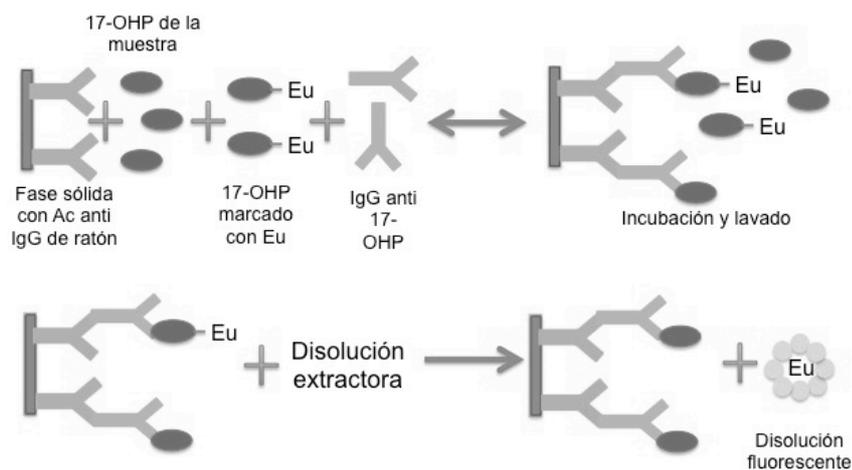
El ensayo que se utiliza en el cribado neonatal de HSC está basado en la reacción de competencia entre la 17OHP marcada con Eu y la 17OHP de la muestra, por un número limitado de sitios de unión en los anticuerpos policlonales específicos de la 17OHP (derivados del conejo). Un segundo anticuerpo, dirigido contra la IgG de conejo

está adherido en cada uno de los pocillos de la placa de microtitulación y permite la separación del antígeno unido al anticuerpo del antígeno libre, mediante un proceso de lavado.

La solución intensificadora disocia los iones de Eu del anticuerpo y forma quelatos altamente fluorescentes. A continuación, se mide la fluorescencia en cada pocillo. La fluorescencia producida en cada muestra es inversamente proporcional a la concentración en la muestra de 17OHP (**Figura 23**).

Un autoanalizador, 1235 AutoDELFI[®] (PerkinElmer), es el que se encarga de la dispensación de los reactivos necesarios para la cuantificación y de la medida de la señal a la longitud de onda adecuada.

Figura 23. Reacción de cuantificación de 17OHP.



b) Cuantificación de 17OHP, ACTH y cortisol.

Entre las pruebas de confirmación de HSC están la cuantificación de niveles de 17OHP, ACTH y cortisol, cuya evolución fue analizada en este trabajo.

La 17OHP se cuantificó en muestras de suero a través de un enzoinmunoensayo (DiAsource 17- α -OH Progesterone Enzyme Immunoassay Kit), el cortisol, también en suero, mediante un inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas (CMIA) comercial (Architect i2000 - Abbott diagnostics), y los niveles de ACTH se midieron en

muestras de plasma utilizando K3-EDTA como anticoagulante con un ensayo secuencial inmunométrico (Inmulite 2000 ACTH - Siemens).

2.2.5. Recogida de datos

Los niveles de 17OHP de los neonatos se recogerán una vez analizadas las muestras a través del Sistema Informático de Laboratorio (SIL), también las concentraciones de 17OHP, ACTH y cortisol, en los casos en los que haya sido necesaria su cuantificación.

Para la obtención del resto de los datos se consultará: SIL, el informe del parto, el informe de alta del RN y la historia clínica de la madre. A partir de dichas fuentes se tiene acceso a la información suficiente para completar el resto de los datos requeridos (factores maternos, del parto, fetales, neonatales, tratamiento prenatal con corticoides).

En aquellos casos en los que la prueba de cribado neonatal para HSC haya resultado positiva se consultará el historial del RN para conocer el diagnóstico final y la evolución.

2.2.6. Análisis de datos

Se determinó la bondad de ajuste a una distribución normal de todas las variables cuantitativas mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov (K-S) con la corrección de Lilliefors. Todas estas variables presentaron una distribución no normal, por lo tanto se describen mediante mediana como medida de centralización y rango intercuartílico (RIC) para referir la dispersión de la muestra. Asimismo, todos los test estadísticos utilizados fueron no paramétricos.

El análisis descriptivo de las variables cualitativas se realizó mediante el cálculo de las frecuencias absolutas y los porcentajes (frecuencias relativas).

Para determinar la correlación entre variables se realizó estudio de correlación no paramétrico, la rho de Spearman.

La determinación de los puntos de corte se realizó mediante el cálculo del percentil 99 de 17OHP para cada categoría.

Para comparar variables cuantitativas entre dos grupos la prueba estadística elegida fue el test U de Mann-Whitney (M-W), cuando se compararon más de dos grupos se utilizó el test de Kruskal-Wallis (K-W).

Para analizar discrepancias entre frecuencias se llevó a cabo la prueba de Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher dependiendo del tamaño de las categorías a comparar, cuando alguna de las frecuencias esperadas sea inferior a 5 se empleará la prueba exacta de Fisher.

En uno de los apartados del trabajo al no disponer de un tamaño muestral adecuado se optó por tipificar la 17OHP para poder corregir el efecto de la EG sin segmentar la variable.

Todas las pruebas estadísticas se han considerado bilaterales y estadísticamente significativas para un valor de p inferior a 0,05.

Los datos se analizaron con el paquete informático IBM SPSS Statistics 20 (SPSS inc; Chicago, EEUU).

2.2.7. Definiciones

Verdadero negativo (VN): sujeto identificado correctamente por la prueba como sano.

Verdadero positivo (VP): sujeto identificado correctamente por la prueba como enfermo.

Falso negativo (FN): Sujeto clasificado como sano mediante la prueba, pero es enfermo en realidad.

Falso positivo (FP): Sujeto clasificado como enfermo mediante la prueba, pero es sano en realidad.

Sensibilidad: caracteriza la capacidad de la prueba para detectar la enfermedad en sujetos enfermos, es la proporción de enfermos correctamente identificados por la prueba.

Especificidad: caracteriza la capacidad de la prueba para descartar la enfermedad en sujetos sanos, es la proporción de sanos correctamente identificados por la prueba.

Valor predictivo positivo (VPP): proporción de sujetos con la enfermedad en el conjunto de sujetos con resultado positivo en la prueba, es la probabilidad de presentar la enfermedad si el sujeto ha dado resultado positivo.

Valor predictivo negativo (VPN): proporción de sujetos sin la enfermedad en el total de sujetos con resultado negativo en la prueba, es la probabilidad de no presentar la enfermedad si el sujeto ha dado resultado negativo.

Valor global (VG): Proporción de sujetos clasificados.

3. RESULTADOS

3.1. INCIDENCIA

En el Hospital Universitario Miguel Servet se realizó el cribado neonatal para HSC a un total de 137595 RN desde el inicio del programa en marzo de 2003 hasta mayo de 2015. En este período se diagnosticaron 8 casos de HSC debida a déficit clásico de 21OH. Por lo tanto, la incidencia de HSC clásica debida al déficit de 21OH desde el inicio del programa de cribado neonatal fue de 1:17199 RN vivos.

Tres de los casos diagnosticados no se detectaron a través de cribado neonatal. Uno de ellos era una niña cuyo hermano había sido diagnosticado de HSC mediante el programa de cribado neonatal, hacía 3 años. Ante el riesgo de que la niña pudiese padecer también la enfermedad se realizó el estudio genético prenatal diagnosticándose al feto de HSC debida a déficit de 21OH. La madre siguió el protocolo de diagnóstico y tratamiento prenatal y desde el inicio de la gestación llevó tratamiento con dexametasona. Al nacimiento el nivel de 17OHP en el cribado neonatal resultó normal (7,1 nmol/L). En la exploración física se describieron genitales externos femeninos, labios mayores de aspecto escrotal, clítoris, introito vaginal pequeño con fusión posterior de labios menores, resto de exploración normal.

Los otros dos casos que no fueron diagnosticados a través del cribado neonatal fueron dos niñas que presentaron virilización genital al nacimiento. Una de ellas con hipertrofia de clítoris, labios mayores hipertróficos con aspecto escrotal e hiperpigmentación de los mismos y se objetivó un único orificio común a uretra y vagina, sin gónadas palpables. No obstante, el resultado de la cuantificación de 17OHP en el cribado neonatal fue de 372 nmol/L, un resultado positivo. De la otra niña sólo conocemos que presentó virilización de genitales al nacimiento porque nació en otro hospital y el seguimiento se realiza en ese mismo centro, pero la concentración de 17OHP en la prueba de cribado neonatal fue elevada, 201 nmol/L.

A pesar de que el objetivo principal del programa de cribado neonatal para HSC es la detección de las formas de pérdida salina del déficit de 21OH, se detectó una HSC debida a déficit de 3- β HSD. Se trata de un RN con genitales externos de apariencia femenina, con cariotipo XY, que presentó una elevación persistente de 17OHP y que finalmente se llegó al diagnóstico de deficiencia clásica de 3- β HSD.

Se diagnosticaron además 3 casos de HSC no clásica debida a déficit de 21OH, aunque esta forma de la enfermedad tampoco sea objetivo del cribado neonatal.

Hasta la fecha actual no se ha detectado ningún FN.

3.2. CASUÍSTICA

A continuación, tablas de **Tabla 19** a **Tabla 30**, se detallan los casos de HSC detectados a través del programa de cribado neonatal.

Tabla 19. Caso 1.

CASO 1	
Identificación	LCV
Diagnóstico	HSC no clásica. Déficit 21OH
Fecha nacimiento	2/7/12
Sexo	F
Cribado neonatal 17OHP (nmol/L)	21,8
Exploración física al nacimiento	
EG (semanas)	37,5
Peso (g)	3100
Talla (cm)	48,2
Perímetro craneal (cm)	36
Exploración general	
Sin síntomas	
No vómitos, gana peso	
Estudio de confirmación	
<i>Fecha: 19/7/12</i>	<i>Edad: 16 días</i>
ACTH (pg/mL)	144
Cortisol (µg/dL)	8,98
17OHP (ng/mL)	30,16
Estudio genético	
p.Ile173Ans / p.Val282Leu	
Tratamiento	
No requiere	
Última exploración	
Fecha	2/2/15
Edad cronológica	2a 7m
Edad ósea	2a 6m – 3a
Talla (cm)	91,1
Peso (Kg)	13,2
IMC (kg/m ²)	15,9

Tabla 20. Caso 2.

CASO 2	
Identificación	DCV
Diagnóstico	HSC no clásica. Déficit 21OH
Fecha nacimiento	2/7/12
Sexo	M
Cribado neonatal 17OHP (nmol/L)	24,8
Exploración física al nacimiento	
EG (semanas)	37,5
Peso (g)	2710
Talla (cm)	46,5
Perímetro craneal (cm)	36
Exploración general	
Sin sintomatología	
No vomita. Gana peso.	
Estudio de confirmación	
<i>Fecha: 19/7/12</i>	<i>Edad: 16 días</i>
ACTH (pg/mL)	21,4
Cortisol (µg/dL)	0,49
17OHP (ng/mL)	23,16
Estudio genético	
p.Ile173Ans / p.Val282Leu	
Tratamiento	
No requiere	
Última exploración	
<i>Fecha</i>	<i>2/2/15</i>
Edad cronológica	2a 7m
Edad ósea	2a 6m – 3a
Talla (cm)	93,1
Peso (Kg)	13
IMC (kg/m ²)	15,0

Tabla 21. Caso 3.

CASO 3	
Nombre	SRL
Diagnóstico	HSC no clásica. Déficit 21OH
Fecha nacimiento	21/6/10
Sexo	F
Cribado neonatal 17OHP (nmol/L)	91,58
Exploración física al nacimiento	
EG (semanas)	36
Peso (g)	1890
Talla (cm)	44
Perímetro craneal (cm)	31,5
Exploración general	
No hiperpigmentación	
Clítoris normal	
Estudio de confirmación	
<i>Fecha: 6/7/10</i>	<i>Edad: 15 días</i>
Cortisol (µg/dL)	2,75
17OHP (ng/mL)	28,3
Na (mEq/L)	136
K (mEq/L)	5,8
Cl (mEq/L)	104
Estudio genético	
Val282Leu en homocigosis	
Tratamiento	
No requiere	
Última exploración	
<i>Fecha</i>	<i>10/10/14</i>
Edad cronológica	4a 2m
Edad ósea	4a 3m
Talla (cm)	105,6
Peso (Kg)	16
IMC (kg/m ²)	14,3

Tabla 22. Caso 4.

CASO 4	
Identificación	ASR
Diagnóstico	HSC Déficit 3 β HSD
Fecha nacimiento	22/12/2003
Sexo	F
Cribado neonatal 17OHP (nmol/L)	118
Exploración física al nacimiento	
EG (semanas)	37
Peso (g)	1780
Talla (cm)	47 (23 días)
Perímetro craneal (cm)	32,7 (23 días)
Exploración general	
Microsómico. Aspecto distrófico. Facies peculiares. Pigmentación oscura generalizada. Testículos palpables en ambas ingles Genitales externos femeninos con hipertrofia de clítoris y vagina ciega pequeña.	
Estudio de confirmación	
<i>Fecha: 23/1/2004</i>	<i>Edad: 32 días</i>
ACTH (pg/mL)	79
Cortisol (μ g/dL)	18,65
17OHP (ng/mL)	11,68
Aldosterona (pg/mL)	881
Renina (pg/mL)	1,47
Androstendiona (ng/mL)	7,46
Testosterona total (ng/mL)	1,6
Testosterona libre (pg/mL)	7,37
11-desoxicortisol (ng/mL)	72,4
SDHEA (μ g /mL)	7,69
17-OHpregnenolona	<0.39
Na (mEq/L)	116
K (mEq/L)	6,5
Cl (mEq/L)	91
Estudio genético:	
Cariotipo: 46 XY Mutación: Gen HSD3B2: Pro222Gln	
Tratamiento	
<i>Fecha inicio: 27/1/2004</i>	<i>Edad: 36 días</i>
Dosis de HC	20 mg/m ² /día
Dosis ASTONIN	0,125 mg/24 horas
Dosis de sal	0.5 g / 8horas
Última exploración	
<i>Fecha</i>	<i>27/4/15</i>
Edad cronológica	11a (22/12/14)
Edad ósea	Niñas: 9 a 6m-10a Niños: 11 a 3m
Talla (cm)	142,5
Peso (Kg)	38,8
IMC (kg/m ²)	18,85
Dosis HC	10,4 mg/m ² /día
Dosis ASTONIN	0,025 mg/12horas

Tabla 23. Caso 5.

CASO 5	
Identificación	RCG
Diagnóstico	HSC clásica. Déficit 21OH
Fecha nacimiento	05/11/04
Sexo	M
Cribado neonatal 17OHP (nmol/L)	370
Exploración física al nacimiento	
EG (semanas)	40,5
Peso (g)	4460
Talla (cm)	53
Exploración general	
Bolsa escrotal hiperpigmentada, rugosa, abundantes pliegues. Hiperpigmentación generalizada: axilar, pliegues, línea alba del abdomen Bien hidratado	
Estudio de confirmación	
<i>Fecha: 10/11/2004</i>	<i>Edad: 5 días</i>
ACTH (pg/mL)	980
Cortisol (µg/dL)	9,3
17OHP (ng/mL)	94,39
Aldosterona (pg/mL)	280
ARP (ng/mL/h)	13,93
Androstenediona (ng/mL)	38,67
Testosterona total (ng/mL)	8,02
Testosterona libre (pg/mL)	29,24
11-desoxicortisol (ng/mL)	99,4
Na (mEq/L)	138
K (mEq/L)	5,4
Cl (mEq/L)	104
Estudio genético	
655G / Gln318Stop	
Tratamiento	
<i>Fecha inicio: 11/11/04</i>	<i>Edad: 6 días</i>
Dosis de HC	20 mg/m ² /día
Dosis ASTONIN	0,0125 mg / 12 horas
Dosis de sal	0,5 g /12 horas
Última exploración	
<i>Fecha</i>	<i>25/05/15</i>
Edad cronológica	10a 2m (9/01/2015)
Edad ósea	11a 3m (9/01/2015)
Talla (cm)	147,2
Peso (Kg)	61,4
IMC (kg/m ²)	28,3
Dosis HC	14,2 mg/m ² /día
Dosis ASTONIN	0,025 mg / 12 horas

Tabla 24. Caso 6.

CASO 6	
Identificación	AVC
Diagnóstico	HSC clásica. Déficit 21OH
Fecha nacimiento	17/2/2005
Sexo	M
Cribado neonatal 17OHP (nmol/L)	1010
Exploración física al nacimiento	
EG (semanas)	A término
Peso (g)	3220
Talla(cm)	51
Perímetro craneal (cm)	35,5
Exploración general	
Genitales levemente pigmentados en bolsa escrotal	
Pene normal	
Línea alba pigmentada	
Gana peso	
Estudio de confirmación	
<i>Fecha: 23/2/2005</i>	<i>Edad: 6 días</i>
ACTH (pg/mL)	585
Cortisol (µg/dL)	10,6
17OHP (ng/mL)	51,9
ARP (ng/mL/h)	31,39 (ya tratamiento)
Testosterona total (ng/mL)	34,41
Testosterona libre (pg/mL)	36,43
DHEAS (µg/mL)	3,19
11-desoxicortisol (ng/mL)	35
Na (mEq/L)	134
K (mEq/L)	5,7
Cl (mEq/L)	103
Estudio genético	
Gln318Stop / Gln318Stop	
Tratamiento	
<i>Fecha inicio: 23/2/2005</i>	<i>Edad: 6 días</i>
Dosis de HC	25 mg/m ² /día
Dosis ASTONIN	0,025 mg / 8 horas
Dosis de sal	0,5 g /12 horas
Última exploración	
<i>Fecha</i>	<i>9/2/15</i>
Edad cronológica	10a
Edad ósea	9a 6m
Talla (cm)	135,5
Peso (Kg)	33,2
IMC (kg/m ²)	16,0
Dosis HC	13,6 mg/m ² /día
Dosis ASTONIN	0,035 mg / 8 horas

Tabla 25. Caso 7.

CASO 7		
Nombre	CCG	
Diagnóstico	HSC clásica. Déficit 21OH	
Fecha nacimiento	18/5/2007	
Sexo	F	
Cribado neonatal 17OHP (nmol/L)	15,30 (normal debido a tratamiento prenatal)	
Exploración física al nacimiento		
EG (semanas)	37	
Peso (g)	3980	
Talla (cm)	49,4	
Perímetro craneal (cm)	36	
Exploración general		
No virilización de genitales externos.		
Fusión de labios menores a nivel posterior.		
Estudio de confirmación		
<i>Fecha: 22/5/2007</i>	<i>Edad: 4 días</i>	
	Cordón	suero
ACTH (pg/mL)	16,7	33,4
Cortisol (µg/dL)	1,2	3,7
17OHP (ng/mL)	14,3	4,65
Aldosterona (pg/mL)		58
Renina (pg/mL)		6,59
Androstenediona (ng/mL)	3,63	2,21
Testosterona total (ng/mL)	1,23	0,41
Testosterona libre (pg/mL)	0,12	0,20
Na (mEq/L)		140
K (mEq/L)		5
Cl (mEq/L)		110
Estudio genético		
655G / Gln318Stop		
Tratamiento		
<i>Prenatal</i>		
desde la semana 6 de gestación: 0,5 mg / 12 horas		
<i>Postnatal</i>		
<i>Fecha inicio: 18/5/2007</i>	<i>Edad: 0 días</i>	
Dosis de HC	16,3 mg/m ² /día	
Dosis ASTONIN	0,025 mg / 12 horas	
Dosis de sal	0,5 g / día	
Última exploración		
<i>Fecha</i>	<i>25/5/15</i>	
Edad cronológica	6a 11m (10/4/14)	
Edad ósea	5a 6m (10/4/14)	
Talla (cm)	120,1	
Peso (kg)	29	
IMC (kg/m ²)	20,1	
Dosis HC	10,2 mg/m ² /día	
Dosis ASTONIN	0,025 g / 12 horas	

Tabla 26. Caso 8.

CASO 8	
Nombre	AAM
Diagnóstico	HSC clásica. Déficit 21OH
Fecha nacimiento	25/3/11
Sexo	M
Cribado neonatal 17OHP (nmol/L)	54,2
Exploración física al nacimiento	
EG (semanas)	38,2
Peso (g)	2315
Talla (cm)	46
Perímetro craneal (cm)	33
Exploración general	
No vomita, buena vitalidad	
Bolsa escrotal ligeramente pigmentada	
Estudio de confirmación	
<i>Fecha: 14/4/11</i>	<i>Edad: 20 días</i>
ACTH (pg/mL)	42,4
Cortisol (µg/dL)	1,97
17OHP (ng/mL)	68,63
Aldosterona (pg/mL)	691,8
Renina (pg/mL)	724
Androstenediona (ng/mL)	26,68
Testosterona total (ng/mL)	1,46
Na (mEq/L)	134
K (mEq/L)	6
Cl (mEq/L)	103
Estudio genético: c.293-13Aoc>G / p.Pro31Leu	
Tratamiento	
<i>Fecha inicio: 14/4/2011</i>	<i>Edad: 20 días</i>
Dosis de HC	25 mg/m ² /día
Dosis ASTONIN	0,0125 mg /8 horas
Dosis de sal	0,5g /12 horas
Última exploración	
<i>Fecha</i>	<i>20/2/15</i>
Edad cronológica	3a 4m (28/7/14)
Edad ósea	3a 6m - 4a (28/7/14)
Talla (cm)	104,9
Peso (Kg)	22,6
IMC (kg/m ²)	20,9
Dosis HC	9,7 mg/m ² /día
Dosis ASTONIN	0,025 mg / 8 horas

Tabla 27. Caso 9.

CASO 9	
Nombre	MLA
Diagnóstico	HSC clásica. Déficit 21OH
Fecha nacimiento	17/11/11
Sexo	M
Cribado neonatal 17OHP (nmol/L)	457
Exploración física al nacimiento	
EG (semanas)	41,6
Peso (g)	4520
Talla (cm)	54,6
Perímetro craneal (cm)	37,5
Exploración general	
Pene grande, rugoso, líneas transversales, escroto bien desarrollado No vomita. Orina mucho. Hiperpigmentación general: genitales, ombligo, mamila, línea alba, axilas.	
Estudio de confirmación	
<i>Fecha: 23/11/11</i>	<i>Edad: 6 días</i>
ACTH (pg/mL)	1021
Cortisol (µg/dL)	2,51
17OHP (ng/mL)	30,7
Aldosterona (pg/mL)	1941,6
Renina (pg/mL)	390
Testosterona total (ng/mL)	6,6
Na (mEq/L)	134
K (mEq/L)	7
Cl (mEq/L)	99
Estudio genético: p.Gln319Stop / p.Leu108Arg	
Tratamiento	
<i>Fecha inicio: 23/11/11</i>	<i>Edad: 6 días</i>
Dosis de HC	31 mg/m ² /día
Dosis ASTONIN	0,05 mg / 12 horas
Dosis de sal	0,5 g / 12 horas
Última exploración	
<i>Fecha</i>	<i>16/1/15</i>
Edad cronológica	2a 4m (3/4/13)
Edad ósea	2a 6m (3/4/13)
Talla (cm)	100
Peso (Kg)	17,5
IMC (kg/m ²)	17,5
Dosis HC	10,8 mg/m ² /día
Dosis ASTONIN	0,05 mg /12 horas

Tabla 28. Caso 10.

CASO 10	
Identificación	ASS
Diagnóstico	HSC clásica. Déficit 21OH
Fecha nacimiento	20/01/13
Sexo	M
Cribado neonatal 17OHP (nmol/L)	138
Exploración física al nacimiento	
EG (semanas)	41
Peso (g)	3930
Talla (cm)	51
Perímetro craneal (cm)	37
Exploración general	
<i>No disponible</i>	
Estudio de confirmación	
<i>No disponible</i>	
Estudio genético	
p.R357W en homocigosis	
Tratamiento	
<i>No disponible</i>	
Última exploración	
<i>No disponible</i>	

Tabla 29. Caso 11.

CASO 11	
Identificación	JNM
Diagnóstico	HSC clásica. Déficit 21OH
Fecha nacimiento	19/10/14
Sexo	F
Cribado neonatal 17OHP (nmol/L)	372
Exploración física al nacimiento	
EG (semanas)	40,3
Peso (g)	2855
Talla (cm)	48
Perímetro craneal (cm)	33
Exploración general	
Genitales ambiguos Prader III-IV	
Clítoris aumentado de tamaño: 2,5-3 cm con un único orificio compartido por uretra y vagina.	
Labios mayores hipertróficos con aspecto escrotal e hiperpigmentación de los mismos.	
Hiperpigmentación de mamilas y clítoris.	
Gónadas no palpables.	
Estudio de confirmación	
<i>Fecha: 21/10/14</i>	<i>Edad: 3 días</i>
ACTH (pg/mL)	193
Cortisol (µg/dL)	1.73
17OHP (ng/mL)	342.82
Aldosterona (pg/mL)	791.0
ARP (ng/mL/h)	20,7
Androstendiona (ng/mL)	136.5
Testosterona total (ng/mL)	5,58
Testosterona libre (pg/mL)	44,20
11-desoxicortisol (ng/mL)	44,06
Na (mEq/L)	136
K (mEq/L)	4,8
Cl (mEq/L)	100
Estudio genético	
IVS2-13A/C>G / c.1451_1452delGGinsC	
Tratamiento	
<i>Fecha inicio: 22/10/14</i>	<i>Edad: 4 días</i>
Dosis de HC	1,5mg / 8 horas
Dosis ASTONIN	0,05 mg/12 horas
Dosis de sal	0,5g/12horas
Última exploración	
<i>Fecha</i>	<i>14/5/15</i>
Edad cronológica	7 meses
Talla (cm)	62,9
Peso (Kg)	6,850
IMC (kg/m ²)	24,24
Dosis HC	18mg/m ² /día
Dosis ASTONIN	0,05 mg / 12 horas
Dosis de sal	0,5 g /24 horas

Tabla 30. Caso 12.

CASO 12	
Identificación	MMV
Diagnóstico	HSC clásica. Déficit 21OH
Fecha nacimiento	21/04/15
Sexo	F
Cribado neonatal 17OHP (nmol/L)	201
Exploración física al nacimiento	
EG (semanas)	40
Peso (g)	3420
Talla (cm)	50
Perímetro craneal (cm)	36
Exploración general	
<i>No disponible</i>	
Estudio de confirmación	
<i>No disponible</i>	
Estudio genético	
<i>No disponible</i>	
Tratamiento	
<i>No disponible</i>	
Última exploración	
<i>No disponible</i>	

3.3. OPTIMIZACIÓN DE LOS PUNTOS DE CORTE DE 17OHP PARA EL CRIBADO NEONATAL DE HSC

Debido al alto porcentaje de FP que presentan los programas de cribado neonatal para HSC, es necesario establecer unos puntos de corte óptimos para el marcador 17OHP en función de las características de la población sometida a cribado.

Población de estudio

La población seleccionada para esta parte del trabajo comprendió aquellos RN cuya prueba de cribado neonatal fue realizada en el Hospital Universitario Miguel Servet y cuyos datos demográficos necesarios para el estudio (fecha de nacimiento, fecha de extracción, sexo, EG y peso) estaban perfectamente registrados.

Se emplearon dos subpoblaciones diferentes:

- la **Población 1**, correspondiente a los 12891 RN sometidos a cribado en los años 2005 y 2006, para el cálculo de los puntos de corte óptimos de 17OHP; y,
- la **Población 2**, que comprende los 16198 RN sometidos a cribado neonatal durante los años 2007 y 2008, para la validación de los nuevos puntos de corte obtenidos con la población anterior.

Estudio descriptivo de la muestra

*Se describen las variables cuantitativas 17OHP, peso, EG, edad a la extracción de ambas poblaciones en las Tablas **Tabla 31** y*

Tabla 32.

Tabla 31. Descriptivos de las variables cuantitativas de la Población 1.

<i>Población 1: Optimización del Programa de Cribado</i>				
Variable	K-S (p)	n	Mediana	RIC
17OHP	0.000	12891	15.10 (nmol/L)	10.60 - 21.20
Peso	0.000	12891	3205 (g)	2900 - 3510
EG	0.000	12891	39.3 (semanas)	38.2 - 40.2
Edad a la extracción	0.000	12891	3 (días)	3 - 3

Tabla 32. Descriptivos de las variables cuantitativas de la Población 2.

<i>Población 2: Validación del Programa de Cribado</i>				
Variable	K-S (p)	n	Mediana	RIC
17OHP	0.000	16198	15.60 (nmol/L)	11.10 – 21.60
Peso	0.000	16198	3210 (g)	2900 - 3510
EG	0.000	16198	39.3 (semanas)	38.2 – 40.2
Edad a la extracción	0.000	16198	3 (días)	2 - 3

La variable cualitativa sexo se describe mediante el porcentaje de cada categoría.

Tabla 33. Descriptivos de la variable cualitativa sexo.

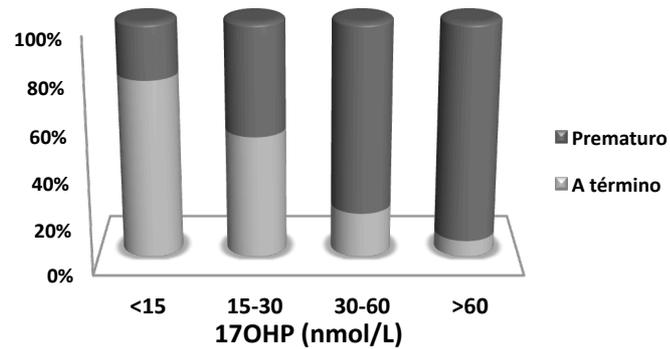
	Sexo	
	Población 1	Población 2
Femenino (%)	48.3	49.4
Masculino (%)	51.7	50.6

Es sabido que los RN pretérmino presentan valores más elevados de 17OHP que el resto. Los niveles de 17OHP dependen enormemente del grado de maduración fetal, por lo tanto, la EG y el peso van a poder asociarse con los niveles de 17OHP al nacimiento, ya que son variables íntimamente relacionadas con el crecimiento intraútero y el desarrollo fetal. Esta estrecha relación queda reflejada tanto en la **Tabla 34** como en la **Figura 24**, donde se observa que hay una mayor proporción de RN prematuros en los valores más elevados de 17OHP. Es más, para concentraciones de 17OHP superiores a 30 nmol/L la proporción de RN prematuros supera a la de RN a término.

Tabla 34. Distribución de niveles de 17OHP para RN prematuros y a término.

17OHP (nmol/L)	% RN prematuros	% RN a término
< 15	23,88	76,12
15 - 30	47,73	52,27
30 - 60	80,98	19,02
> 60	93,12	6,88

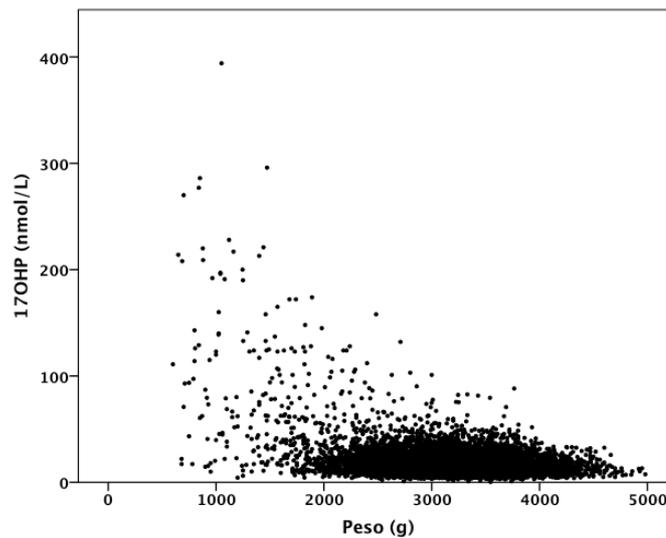
Figura 24. Distribución de niveles de 17OHP para RN prematuros y a término.

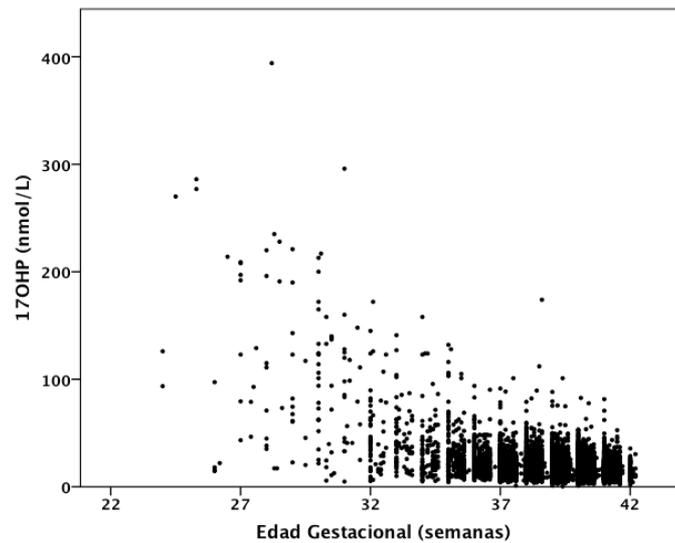


Por este motivo, es necesario que los puntos de corte de 17OHP para el cribado neonatal de HSC se establezcan en función del peso al nacimiento o de la EG.

La gran variabilidad de los niveles de 17OHP en función de peso y EG queda reflejada en la **Figura 25**.

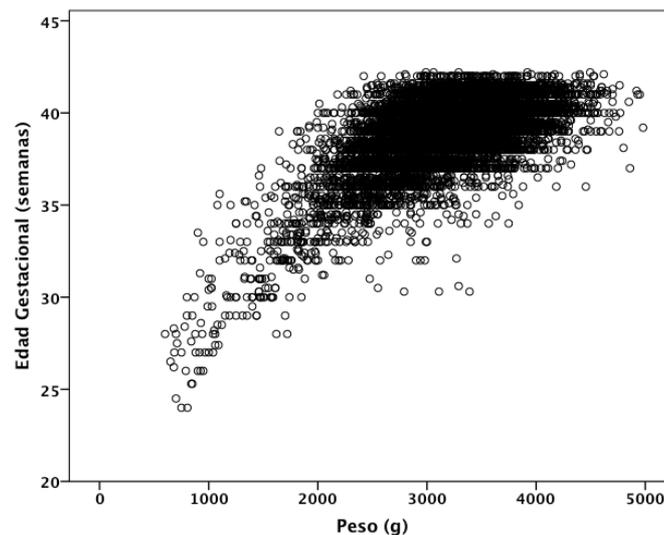
Figura 25. Distribución de niveles de 17OHP en función de peso y EG.





Los niveles de 17OHP varían mucho en función de EG y peso, pero estas dos variables no son equivalentes. Esto queda patente en la **Figura 26** donde se observa la gran dispersión que hay entre peso y EG.

Figura 26. Dispersión peso vs EG



La baja correlación que existe entre peso y EG en la población del presente estudio quedó de manifiesto al presentar una rho de Spearman $< 0,5$ ($\rho = 0,48$; $p=0,000$).

De este modo, fue necesario, primero, determinar qué variable, peso o EG, explica mejor la variabilidad de los niveles de 17OHP en los neonatos, y después, establecer unos puntos de corte en función de la variable seleccionada para obtener mayor especificidad y sensibilidad en la detección de HSC a través del cribado neonatal.

Para ajustar los puntos de corte de 17OHP fue necesario definir los grupos de peso y EG adecuados, ya que es preciso que dentro de cada grupo la distribución de los niveles de 17OHP sea homogénea, para ello, se siguieron las indicaciones de la guía NCCLS²⁰⁹:

- Se establecieron unas subclases en función de peso y EG, y se analizó si existían diferencias significativas en la 17OHP entre dichas subclases. Se mantuvieron independientes aquellas subclases entre las que había diferencias significativas, las demás se fusionaron.
- Como criterio más conservador, para establecer los subgrupos definitivos, se utilizó a posteriori el criterio de partición de Lahti²¹⁰:

Se calcularon las desviaciones estándar (sd) de 17OHP en los subgrupos resultantes,

- si el cociente R de las sd (la mayor dividida por la menor) de los dos subgrupos que se comparaban era $R > 1,5$, se realizaba la partición;
- si $R \leq 1,5$ se calculaban las diferencias entre los límites de referencia bajos (LRB) y altos (LRA) de los subgrupos que se analizaban. En este caso los límites de referencia bajo y alto fueron el percentil 1 y el percentil 99 de 17OHP, respectivamente, y se usó la sd más pequeña de los subgrupos, como escala unidad (s), para aplicar los siguientes criterios:
 - si ambas LRB y LRA eran $< 0,25 s$, no se realizaba la partición;
 - si LRB, LRA o ambas eran $\geq 0,75 s$ se realizaba la partición;
 - si LRB o LRA estaban en el intervalo $[0,25 s, 0,75 s]$ y ninguna era $\geq 0,75 s$, la decisión de partición debía hacerse en base a otras consideraciones que las meramente estadísticas.

Los subgrupos definidos inicialmente presentaban intervalos de EG y peso muy estrechos (un grupo por cada semana de gestación y un grupo por cada 250 g de peso). El test de Kruskal-Wallis reflejó la existencia de diferencias significativas entre los subgrupos definidos tanto para el peso como la EG (**Tabla 35**).

Tabla 35. Test K-W para la 17OHP en función de peso (subgrupos de 250g) y EG (subgrupos de 1 semana).

	K-W (p)
EG (semanas)	0.000
Peso (g)	0.000

Al existir diferencias significativas para 17OHP según peso y EG, se estudió entre qué grupos se daban esas diferencias, así, se analizó la existencia de diferencias significativas entre grupos adyacentes mediante test U de Mann-Whitney con corrección de Bonferoni. Los grupos entre los que había diferencias significativas permanecieron independientes, los grupos entre los que no existían diferencias significativas se fusionaron. El resultado se recoge en la Figura 27.

Los subgrupos de peso y EG que resultaron finalmente son:

Tabla 37. Subgrupos definidos de peso y EG.

Peso (g)	EG (semanas)
< 1750	< 31
1750 – 2250	31 – 33
2250 – 2500	33 – 35
2500 – 3000	35 – 36
> 3000	36 – 37
	> 37

La distribución de los valores de 17OHP dentro de los subgrupos de peso y EG definidos queda representada en los diagramas de caja de las figuras **Figura 27** y **Figura 28**.

Se refleja así la gran variabilidad que existe para los niveles de 17OHP en función del peso y la EG y la necesidad de establecer puntos de corte específicos para cada subgrupo.

Figura 27. Dispersión de niveles de 17OHP en función de los grupos de EG.

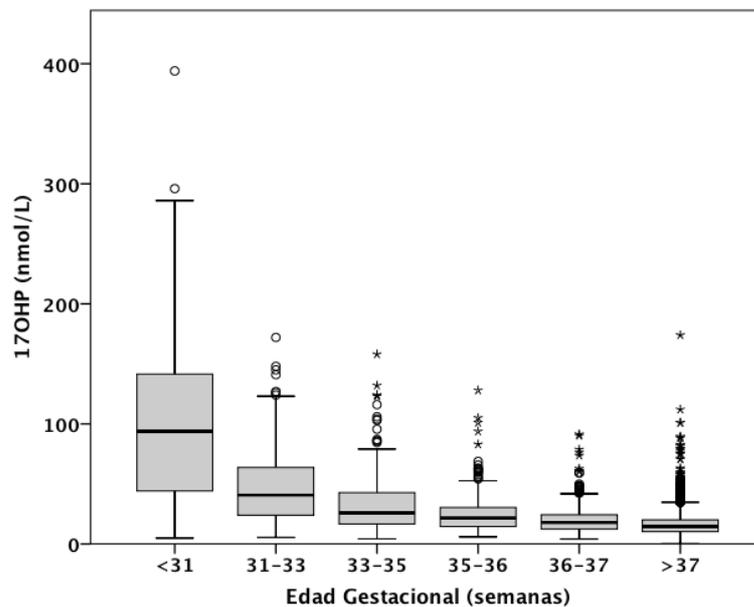
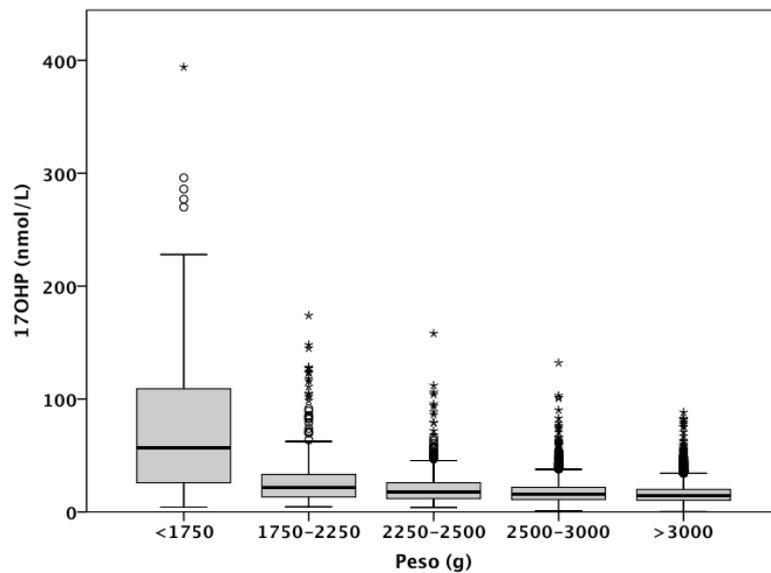


Figura 28. Dispersión de niveles de 17OHP en función de los grupos de peso.

El punto de corte de 17OHP para el cribado neonatal de HSC se tomó como el percentil 99 de la población normal. En las tablas **Tabla 38** y **Tabla 39** se recogen estos valores para cada una de las categorías:

Tabla 38. Percentil 99 de 17OHP en función de EG

EG (semanas)	Percentil 99 17OHP (nmol/L)
<31	394,0
31-33	148,0
33-35	124,0
35-36	93,8
36-37	60,3
>37	42,8

Tabla 39. Percentil 99 de 17OHP en función del peso

Peso (g)	Percentil 99 17OHP(nmol/L)
<1750	296,0
1750-2250	128,0
2250-2500	93,8
2500-3000	52,3
>3000	42,8

Una vez definidos los puntos de corte óptimos para 17OHP, se estudió qué planteamiento, peso o EG, se debía utilizar para la estratificación de los puntos de corte, con objeto de conseguir mejores resultados en cuanto a la eficacia diagnóstica. Para ello,

los puntos de corte calculados anteriormente se aplicaron a la Población 2 definida en la Tabla 31, y se calculó VPP, VPN, especificidad, sensibilidad y VG de la prueba empleando los puntos de corte de ambas estrategias, peso y EG (Tabla 40).

Tabla 40. Eficacia diagnóstica del cribado de HSC según peso y EG.

	<i>EG</i>	<i>Peso</i>
VPP (%)	1,07	0,67
VPN (%)	100	99,99
Especificidad (%)	99,04	98,98
Sensibilidad (%)	100	66,67
VG (%)	99,04	98,98

A la vista de los resultados, se puede afirmar que se obtiene mejor rendimiento en el programa de cribado neonatal utilizando la EG en el ajuste de los puntos de corte de 17OHP. La diferencia más importante se dio en la sensibilidad y fue debido a que uno de los casos de HSC, aplicando puntos de corte en función del peso, habría resultado ser un FN comprometiendo enormemente la eficacia del programa de cribado neonatal.

3.3.1. Niveles de 17OHP en RN pequeños para la EG (PEG).

Los RN PEG tienen unas características en cuanto a peso y EG especiales, son aquellos que no han llegado a un umbral antropométrico específico a una EG determinada, en este trabajo se definieron como aquellos que presentaban peso por debajo del percentil 10 para su EG al nacimiento. Este término, a diferencia del crecimiento intrauterino retardado (CIR) no describe un tipo de crecimiento normal o patológico, sino un resultado del peso/longitud al final de la gestación.

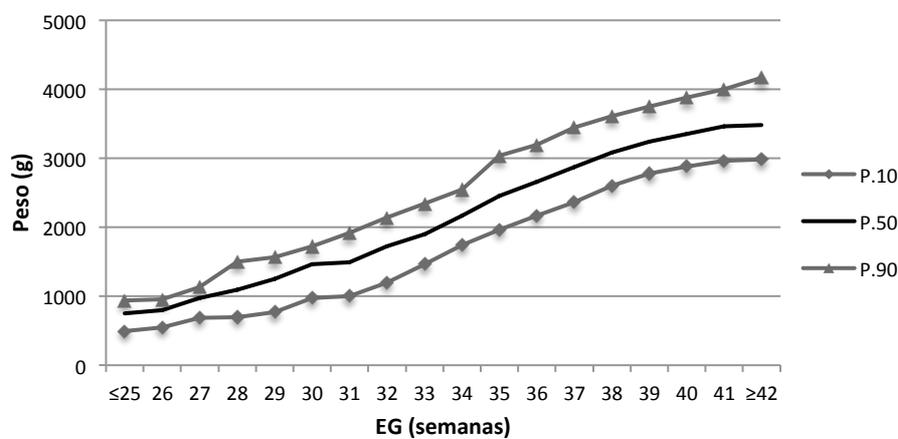
Dado que se trata de un grupo con unas características de desarrollo especiales, se requiere un estudio detallado del comportamiento de los niveles de 17OHP en estos RN.

La **población de estudio** empleada para el desarrollo de esta parte del trabajo fue la Población 1 de RN descrita en la **Tabla 31**.

En primer lugar se identificaron los RN PEG de la población de estudio. Para ello, se calculó el peso por debajo del cual un RN se considera PEG, el percentil 10 del peso para cada EG (**Tabla 41**). En la **Figura 29** se representan gráficamente los percentiles 10, 50 y 90 del peso para cada EG.

Tabla 41. Cálculo del P.10 de peso para cada EG para la identificación de los RN PEG.

EG (semanas)	P.10 peso (g)	EG (semanas)	P.10 peso (g)
≤25	482	34	1715
26	578	35	1902
27	688	36	2128
28	701	37	2345
29	784	38	2565
30	999	39	2750
31	1071	40	2870
32	1193	41	2950
33	1520	≥42	2989

Figura 29. Percentiles 10, 50 y 90 de peso para cada EG.

A continuación, se estudió si existían diferencias significativas en los niveles de 17OHP entre el grupo PEG y no PEG. El test U de Mann-Whitney demostró la existencia de esas diferencias al presentar una significación de $p=0,000$.

Se estudió, entonces, si existían diferencias significativas en los valores de 17OHP, entre los RN PEG y no PEG, pero en este caso para las distintas subclases de peso y EG.

La **Figura 30** muestra la distribución de 17OHP para RN PEG y no PEG en los distintos subgrupos de EG; y en la **Figura 31** se hace lo mismo, pero para cada subgrupo de peso.

Figura 30. Distribución de niveles de 17OHP en función de EG para RN PEG y no PEG.

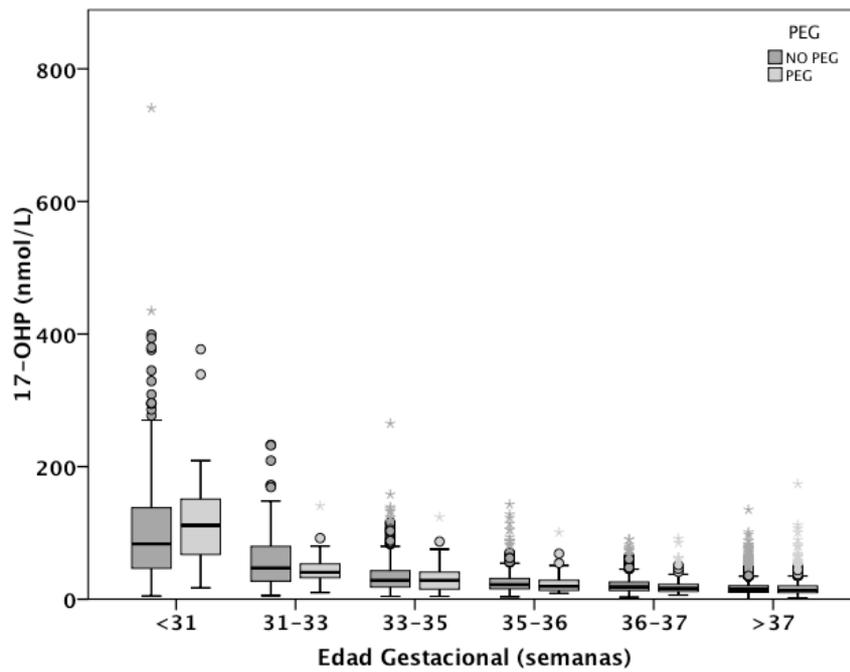
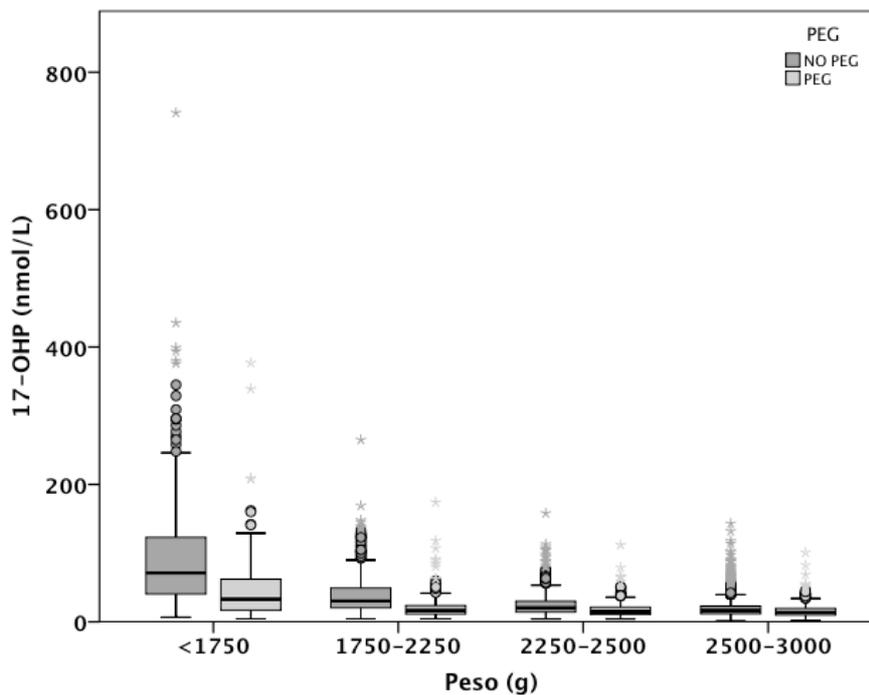


Figura 31. Distribución de niveles de 17OHP en función del peso para RN PEG y no PEG.



Los resultados de aplicar el test de U de Mann-Whitney se recogen en las tablas **Tabla 42** (en función de EG) y **Tabla 43** (en función del peso).

Tabla 42. Diferencias significativas en los niveles de 17OHP en función de EG para RN PEG y no PEG.

EG(semanas)	n		Mediana		P.99		PEG / no PEG M-W (p)
	PEG	no PEG	PEG	no PEG	PEG	no PEG	
<31	8	90	95,0	70,5	377	399	0,810
31-33	8	96	47,5	40,0	141	232	0,947
33-35	20	209	22,5	26,5	124	128	0,825
35-36	32	309	19,0	21,0	69	70	0,207
36-37	61	640	17,5	18,0	85	59	0,181
>37	1061	1035	14,0	15,0	48	42	0,206

Tabla 43. Diferencias significativas en los niveles de 17OHP en función del peso para RN PEG y no PEG.

Peso (g)	n		Mediana		P.99		PEG / no PEG M-W (p)
	PEG	no PEG	PEG	no PEG	PEG	no PEG	
<1750	55	132	31,0	72,0	339,0	435,0	0,000
1750-2250	145	182	17,0	31,0	90,0	145,0	0,000
2250-2500	271	293	15,0	21,0	58,0	104,0	0,000
2500-3000	719	2412	14,0	16,3	40,0	58,0	0,000
>3000	0	8681	-	15,0	-	42,0	-

En el grupo de peso > 3000 g no había ningún RN PEG.

Si se utilizaba la estratificación por peso, se observaban diferencias significativas entre los RN PEG y no PEG, en cambio, si la estratificación se establecía en función de la EG, estas diferencias significativas desaparecían. Con la estratificación por EG se elimina el sesgo producido por PEG.

Este estudio apoya la decisión de utilizar la EG para la optimización de los puntos de corte de los niveles de 17OHP, como se había indicado tras los resultados del apartado 3.3.

3.3.2. Influencia de la edad a la extracción de la muestra y el sexo en los niveles de 17OHP

Otras variables importantes que pueden influir en los niveles de 17OHP son la edad del RN a la extracción de la muestra de sangre y el sexo.

La **población de estudio** empleada para el desarrollo de esta parte del trabajo fue la Población 1 de RN detallada en la **Tabla 31**.

Edad a la extracción

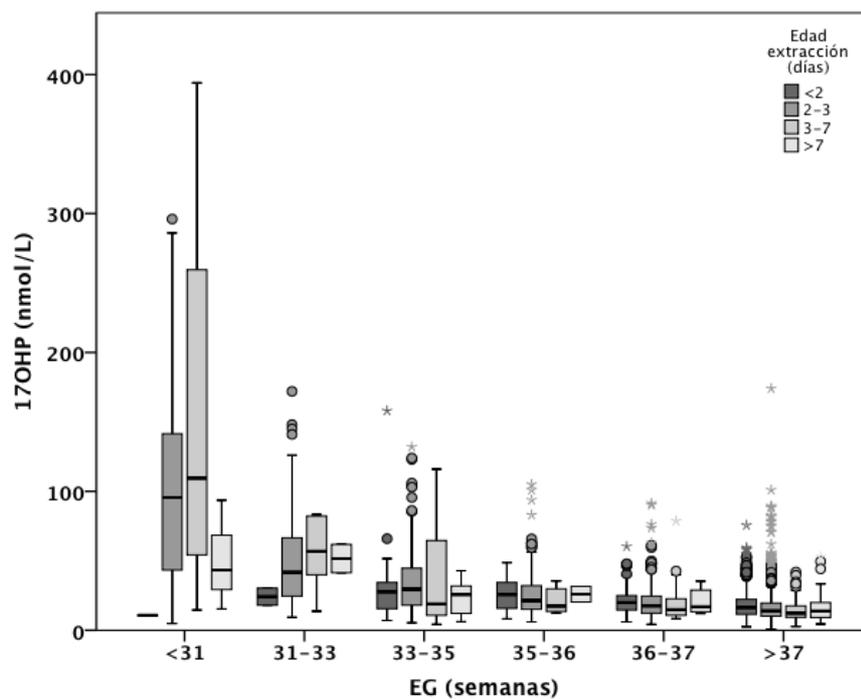
En este apartado se estudiaron diferentes intervalos de tiempos para establecer una edad óptima del RN para la extracción de la muestra que permitiera obtener los mejores resultados en el programa de cribado neonatal.

El protocolo utilizado en el programa de cribado neonatal de la comunidad de Aragón indica que la edad a la que se ha de realizar la extracción de la muestra está entre las 48 y 72 horas de vida; sin embargo, en ocasiones, por distintos motivos, se puede realizar la toma de muestra fuera de esta franja de edad. Por lo tanto, se definieron los siguientes grupos de edad a la extracción para el análisis estadístico:

- Antes de 48 horas de vida
- entre 48 y 72 horas de vida
- entre 72 horas y el séptimo día de vida (dentro de la primera semana)
- más de una semana de vida

En la **Figura 32** se representa la dispersión de los niveles de 17OHP para cada edad a la extracción en los distintos grupos de EG.

Figura 32. Dispersión de los niveles de 17OHP en función de la edad a la extracción.



Posteriormente, se estudió si existían diferencias significativas para los niveles de 17OHP en función de la edad a la extracción aplicando el test de Kruskal-Wallis. Estas diferencias se analizaron para cada uno de los grupos de EG definidos (**Tabla 44**).

Tabla 44. Estudio de la existencia de diferencias significativas en niveles de 17OHP en función de la edad a la extracción.

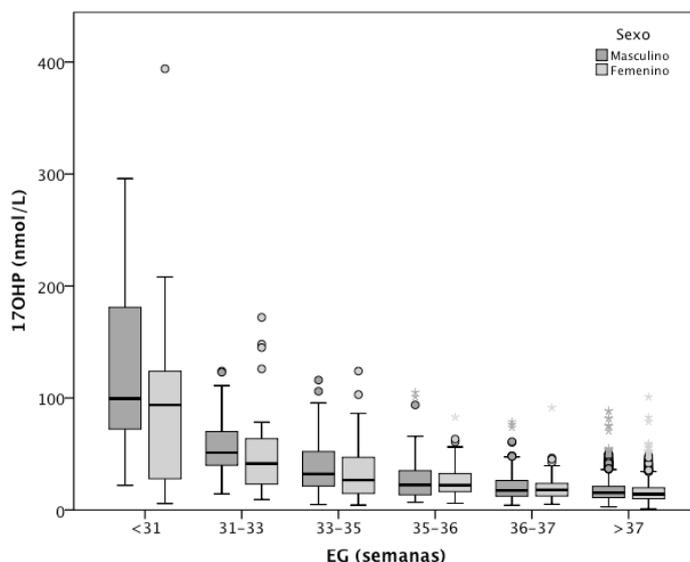
EG	n				K-W p
	Edad a la extracción (días)				
	<2	2 - 3	3 - 7	>7	
<31	1	72	4	3	0,199
31-33	2	70	6	2	0,486
33-35	16	162	9	6	0,572
35-36	44	232	5	2	0,662
36-37	95	439	26	8	0,190
>37	2140	6824	208	85	0,000

No hubo diferencias significativas en función de la edad a la extracción una vez ajustada la EG, excepto para el grupo de RN a término (EG > 37 semanas). Este resultado dispar en el grupo de RN a término se debe a que estos contrastes de hipótesis están muy influidos por el tamaño de la muestra, como se muestra en la **Tabla 44** el tamaño muestral de los RN a término era muy elevado en comparación con los otros grupos de EG. A mayor tamaño muestral aumenta tanto la potencia del test que cualquier diferencia, aunque sea pequeña, será significativa. Además, en este grupo, la dispersión de 17OHP era muy pequeña y en un grupo tan compacto pequeñas diferencias se vuelven muy importantes. Al realizar un nuevo estudio en el grupo de RN a término utilizando una muestra aleatoria más pequeña, de 200 RN, la significación que se obtuvo fue de $p=0,292$; como en el resto de la población no había diferencias significativas en función de la edad a la extracción.

Sexo

En la **Figura 33** se representa la distribución de los valores de 17OHP en función del sexo para cada uno de los grupos de EG.

Se estudió si existían diferencias significativas para los niveles de 17OHP en función del sexo, para ello se aplicó el test no paramétrico de U de Mann-Whitney con corrección de Bonferoni. Estas diferencias se analizaron para cada uno de los grupos de EG definidos (**Tabla 45**).

Figura 33. Dispersión de los niveles de 17OHP en función del sexo.**Tabla 45.** Estudio de la existencia de diferencias significativas en niveles de 17OHP en función del sexo.

EG (semanas)	n		p M-W
	Femenino	Masculino	
<31	28	32	0,080
31-33	25	33	0,255
33-35	55	69	0,135
35-36	94	98	0,795
36-37	145	208	0,910
>37	3089	3233	0,000

No hubo diferencias significativas para el sexo una vez ajustada la EG, excepto para el grupo de RN a término (EG > 37 semanas). Esto ocurre por la misma razón que en la edad a la extracción, el grupo de RN a término es una muestra muy grande y muy compacta en cuanto a valores de 17OHP. Se repitió el análisis estadístico con una nueva muestra aleatoria de 200 RN, con lo que se obtuvo una significación de 0,201, por lo tanto, no había diferencias significativas en función del sexo.

A la vista de estos resultados ni la edad del RN a la que se extrae la muestra de sangre ni el sexo influyen en la concentración de 17OHP, no es necesario ajustar los puntos de corte de 17OHP en función de la edad a la extracción o el sexo a la hora de optimizar el programa de cribado de HSC. La única de las variables estudiadas que tuvo gran influencia en los niveles de 17OHP fue la EG, que actúa como una variable de

confusión, por lo que ha de tenerse en cuenta y realizar el resto de los estudios con la variable 17OHP estratificada por EG para controlar su efecto.

3.4. VALIDACIÓN DE LA NUEVA ESTRATEGIA DEL PROGRAMA DE CRIBADO NEONATAL UTILIZANDO PUNTOS DE CORTE DE 17OHP EN FUNCIÓN DE EG

Se estudió la eficacia diagnóstica de la nueva estrategia del cribado neonatal de HSC establecida en los apartados anteriores, comparándola con la antigua manera de proceder en la que no se utilizaba la segmentación por EG.

*La **población de estudio** empleada en esta parte del trabajo fue la Población 2 descrita en la*

Tabla 32.

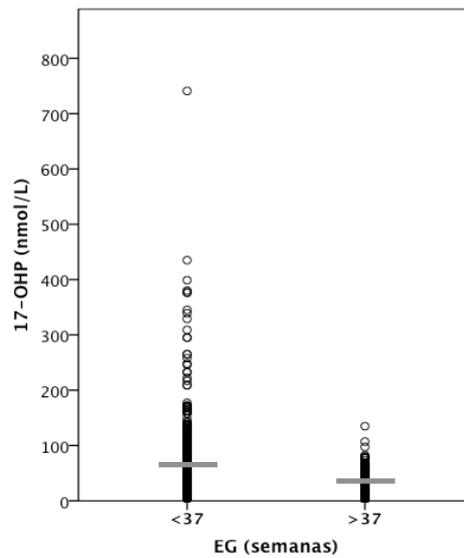
En la bibliografía consultada y la información aportada por el fabricante^{71,211} queda de manifiesto la gran variabilidad que existe en los niveles de 17OHP en la población neonatal, pero para los puntos de corte propuestos sólo contemplan diferencias entre los grupos pre-término (<37sg) y a término (>37sg).

Esta bibliografía recomienda tomar como puntos de corte de 17OHP⁷¹:

- 50 nmol/L para RN pre-término (<37sg)
- 30 nmol/L para RN a término (>37sg)

En la **Figura 34** se representa la distribución de los niveles de 17OHP de la Población 2 dividida en prematuros y no prematuros. Se indica además el punto de corte propuesto en la bibliografía para cada grupo. Así, se puede observar la gran proporción de valores que quedaban por encima de ese punto de corte, siendo mayor en el grupo de RN pre-término.

Figura 34. Distribución de los niveles de 17OHP en las poblaciones pre-término y a término.

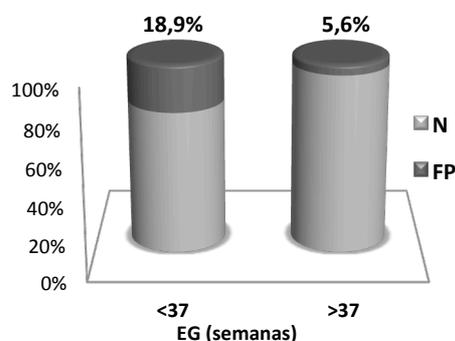


Se aplicaron estos puntos de corte a la población 2 y se calculó el porcentaje de falsos positivos (FP). Los resultados figuran en la **Tabla 46**, donde se observa como el porcentaje de FP es muy elevado aún teniendo en cuenta la prematuridad del RN. Esto queda patente en la **Figura 35** en la que se muestra la tasa de FP para RN prematuros y a término.

Tabla 46. Tasa de FP basados en los puntos de corte propuestos por la bibliografía.

<i>EG (semanas)</i>	<i>n</i>	<i>FP</i>	<i>%FP</i>
<37	1795	339	18,9
>37	14403	811	5,6
Total	16198	1150	7,1

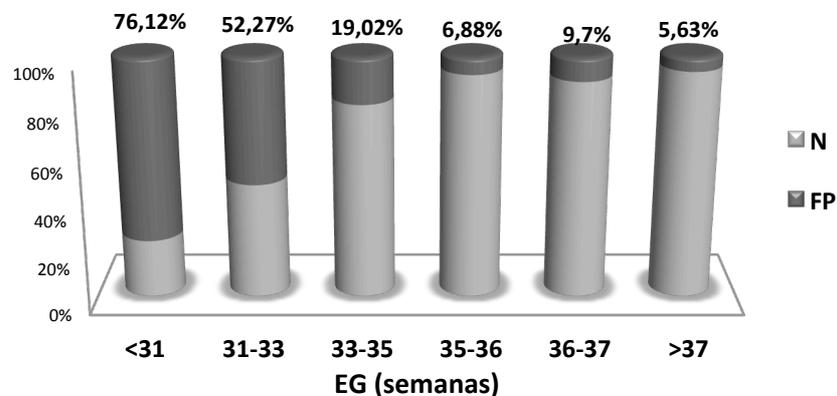
Figura 35. Tasa de FP basados en los puntos de corte propuestos por la bibliografía.



El porcentaje global de FP fue de 7,1%. Al diferenciar entre RN a término y RN prematuros la tasa de FP aumentó exageradamente en la población prematura con un 18,9%.

Utilizando estos mismos puntos de corte (50nmol/L para EG < 37 semanas y 30 nmol/L para EG ≥ 37 semanas) pero desglosando la población de RN en función de los grupos de EG definidos para la estratificación, destacó un porcentaje de FP muy elevado en los grupos de EG menores, en los prematuros extremos (**Figura 36**).

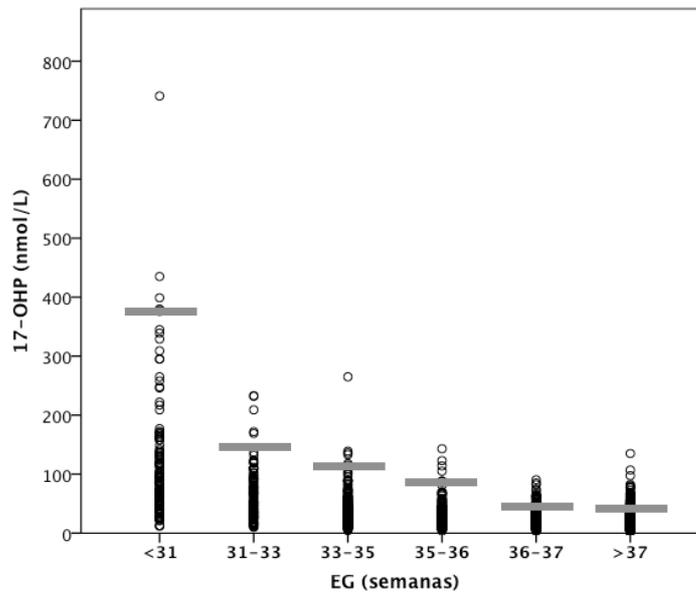
Figura 36. Tasa de FP aplicando los puntos de corte propuestos por la bibliografía en función de EG.



Por debajo de la semana de gestación 33, el número de FP era incluso mayor que los RN normales (52,27% y 76,12%). Teniendo en cuenta la baja incidencia de la enfermedad en la población general, estos datos no son admisibles para un programa de cribado neonatal.

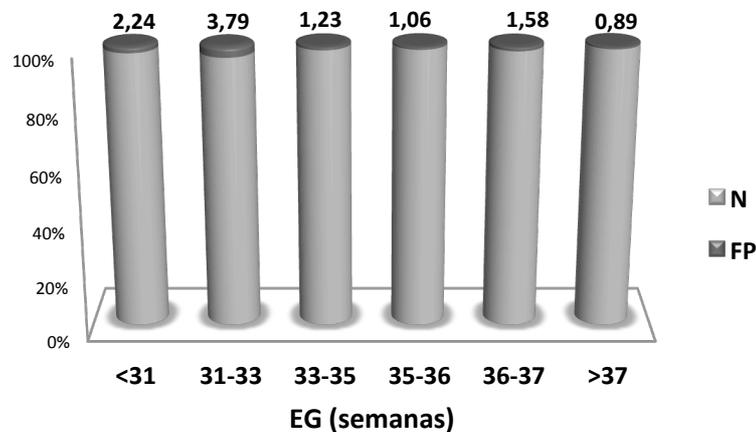
Se aplicó después, en la Población 2, los puntos de corte óptimos calculados en función de la EG que aparecen en la **Tabla 38**. En la **Figura 37** se representa la dispersión de 17OHP en los distintos grupos de EG y el punto de corte. Se puede observar como el número de casos que quedan por encima del punto de corte es menor que en la **Figura 34**.

Figura 37. Puntos de corte de 17OHP en función de EG.



Al calcular el porcentaje de FP aplicando los puntos de corte óptimos se observó como este porcentaje disminuyó enormemente. Se representa la tasa de FP por grupos de EG en la **Figura 38**.

Figura 38. Tasa de FP aplicando los puntos de corte optimizados en función de EG.



Con la optimización de los puntos de corte, la reducción en el porcentaje de FP fue muy importante globalmente, pasando de un 7 a un 1%. Al analizar esta disminución por grupos de EG el número de FP disminuyó drásticamente.

En la **Tabla 47** se recoge la reducción de los FP conseguida al aplicar la nueva estrategia diagnóstica.

Tabla 47. Reducción del % de FP.

<i>EG (semanas)</i>	<i>%FP previo al ajuste de puntos de corte</i>	<i>%FP después del ajuste de puntos de corte</i>	<i>Reducción de %FP</i>
<31	76,12	2,24	97,06
31-33	52,27	3,79	92,75
33-35	19,02	1,23	93,53
35-36	6,88	1,06	84,59
36-37	9,7	1,58	83,71
>37	5,63	0,89	84,19

Los resultados en cuanto a la eficacia del análisis obtenidos al aplicar tanto la estrategia propuesta por la bibliografía como la estrategia derivada de aplicar los puntos de corte propios se resumen en la **Tabla 48**.

Para valorar la eficacia diagnóstica se calculó VPP, VPN, especificidad, sensibilidad y VG de la prueba empleando los puntos de corte de ambas estrategias.

Tabla 48. Eficacia diagnóstica del cribado neonatal de HSC según los puntos de corte.

	<i>Puntos de corte de bibliografía</i>	<i>Puntos de corte calculados</i>
VPP (%)	No Procede	No Procede
VPN (%)	100	100
Especificidad (%)	92,89	99,03
Sensibilidad (%)	No Procede	No Procede
VG (%)	92,89	99,03

No se pudo calcular el VPP ni la sensibilidad debido a que en la población 2 estudiada no hubo ningún RN que padeciese la enfermedad, es decir, no había ningún VP.

La eficacia diagnóstica mejoró sustancialmente al emplear los puntos de corte propios, calculados para nuestra población y segmentados por EG.

3.5. ADAPTACIÓN DEL MÉTODO DE TRABAJO A UN CAMBIO DEL ANTICUERPO INVOLUCRADO EN LA REACCIÓN DE CUANTIFICACIÓN DE 17OHP

La casa comercial PerkinElmer, que distribuye los reactivos para calcular la concentración de 17OHP modificó el anticuerpo que interviene en la reacción de cuantificación. Esta modificación provocó una serie de cambios en cuanto a las concentraciones calculadas para 17OHP, lo que obligó a realizar un estudio de correlación

y una modificación en los puntos de corte, dado que los niveles de 17OHP de las muestras de sangre del RN no se encontraban en el mismo rango que las obtenidas con el antiguo anticuerpo.

Población de estudio

La correlación entre los anticuerpos se realizó sobre un conjunto de 296 muestras de sangre recogidas sobre papel de filtro analizadas por duplicado con los dos tipos de anticuerpos.

Tabla 49. Descriptivos de la variable 17OHP según el anticuerpo utilizado en el análisis.

	<i>p</i> <i>K-S</i>	<i>n</i>	<i>Mediana</i>	<i>RIC</i>
17OHP anticuerpo antiguo	0,000	296	14,1 (nmol/L)	10,05 – 19,55
17OHP anticuerpo nuevo	0,000	296	6,83 (nmol/L)	5,28 – 8,29

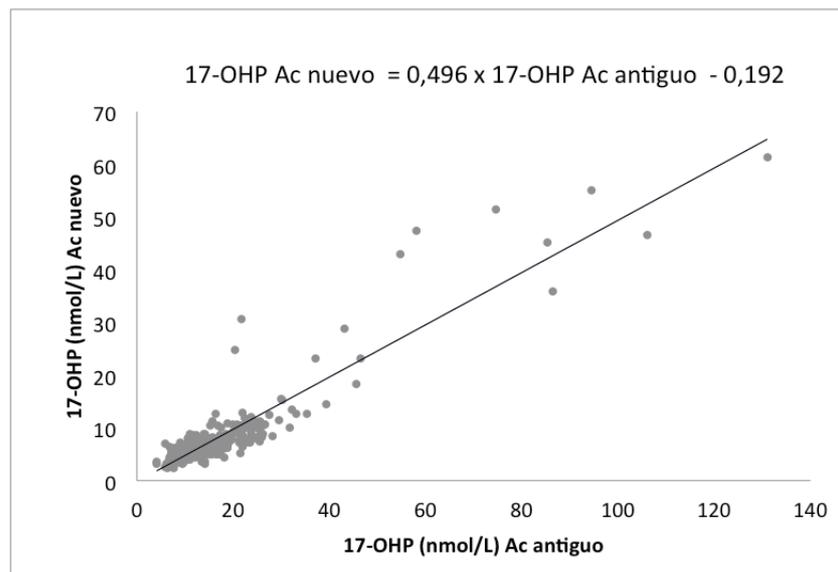
Se estudió la correlación entre las medidas de los dos anticuerpos para determinar si eran analíticamente equivalentes y así transferir los puntos de corte de una metodología a otra. El estudio de correlación se realizó mediante el estudio de correlación no paramétrico Rho de Spearman.

Tabla 50. Estudio de correlación de niveles de 17OHP entre anticuerpos.

	<i>Rho de</i> <i>Spearman</i>	<i>p</i>
17OHP anticuerpo antiguo	0,80	0.000
17OHP anticuerpo nuevo		

Ambos métodos resultaron ser analíticamente equivalentes dada la buena correlación que presentaron ($\rho=0,80$), por lo tanto, los puntos de corte se pudieron transferir de un método al otro. Para ello, primero se calculó la ecuación de regresión que relaciona las concentraciones de 17OHP obtenidas mediante los dos anticuerpos (**Figura 39**).

Figura 39. Regresión lineal entre los niveles de 17OHP obtenidos con ambos anticuerpos.



La ecuación de la recta que permitió la transformación es:

$$17\text{OHP Ac nuevo} = 0,496 \times 17\text{OHP Ac antiguo} - 0,192$$

Para el cálculo de los puntos de corte acordes a la nueva metodología, al no disponer de una muestra lo suficientemente grande de concentraciones de 17OHP cuantificadas con el nuevo anticuerpo, como existía la evidencia de que ambos métodos son analíticamente equivalentes y se conocía la ecuación de regresión que permite convertir resultados de un método a otro, se procedió a recalculer los límites de referencia adecuándolos al nuevo anticuerpo²⁰⁹. Para ello, se aplicó la recta de regresión sobre un conjunto de muestras analizadas con el anticuerpo antiguo para recalculer los valores de 17OHP acordes al nuevo anticuerpo de reacción. Después, se establecieron los percentiles 99 para cada grupos de EG.

La **población de estudio** empleada para fijar los nuevos puntos de corte fue la Población 1 definida en la **Tabla 31**. Es la población que se utilizó también para definir los puntos de corte iniciales, con el antiguo anticuerpo.

En la **Tabla 51** se recogen los puntos de corte resultantes.

Tabla 51. Puntos de corte para el nuevo anticuerpo utilizando la recta de regresión.

<i>EG (semanas)</i>	<i>Percentil 99 nuevo anticuerpo 17OHP (nmol/L)</i>
<31	195,2
31-33	73,2
33-35	61,3
35-36	46,3
36-37	29,7
>37	21,0

Estos puntos de corte eran provisionales y se utilizaron en el programa de cribado neonatal hasta tener una población analizada con el nuevo reactivo de tamaño suficientemente grande que permitiera el correcto cálculo de puntos de corte más acordes a la naturaleza del nuevo anticuerpo utilizado.

3.6. CÁLCULO DE LOS PUNTOS DE CORTE DEFINITIVOS DE 17OHP CUANTIFICADA CON EL NUEVO ANTICUERPO DE REACCIÓN

Cuando se dispuso de una población de tamaño adecuado en la que se había cuantificado la concentración de 17OHP con el nuevo anticuerpo se procedió al cálculo de los puntos de corte definitivos.

Población de estudio

Se utilizó población analizada desde 10/2008 hasta el 12/2009, 11744 RN.

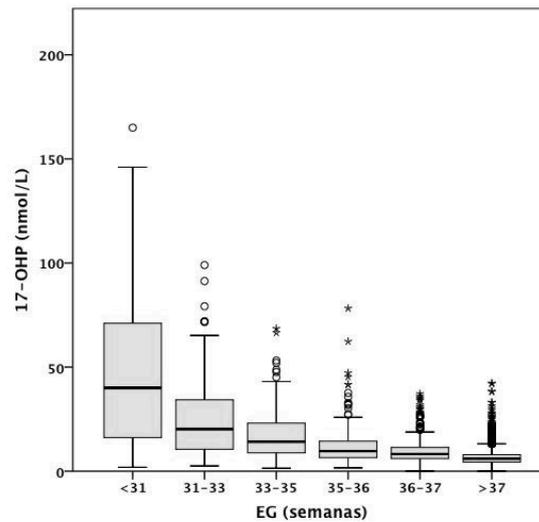
La población seleccionada requería que la prueba de cribado neonatal se hubiera realizado en el Hospital Universitario Miguel Servet con el nuevo anticuerpo de reacción, y que la EG, necesaria para los cálculos, estuviera perfectamente registrada.

Tabla 52. Descriptivos de las variables cuantitativas de la población del estudio.

<i>Variable</i>	<i>K-S (p)</i>	<i>n</i>	<i>Mediana</i>	<i>RIC</i>
17OHP	0.000	11744	6,22 (nmol/L)	4,49 – 8,42
EG	0.000	11744	39,3 (semanas)	38,2 – 40,2

En la **Figura 40** se representa la dispersión de los niveles de 17OHP obtenidos con el nuevo anticuerpo en función de los grupos de EG.

Figura 40. Dispersión de los niveles de 17OHP obtenidos con el nuevo anticuerpo en función de EG.



Se calcularon los puntos de corte definitivos como el percentil 99 de los niveles de 17OHP para cada grupo de EG.

En la **Tabla 53** se recoge el tamaño muestral y el percentil 99 de 17OHP (el punto de corte) para cada grupo de EG.

Tabla 53. Puntos de corte de 17OHP para el nuevo anticuerpo.

EG (semanas)	n	Percentil 99 17OHP (nmol/L)
<31	75	165,0
31-33	93	99,0
33-35	222	53,2
35-36	245	47,2
36-37	618	30,9
>37	10491	16,6

3.7. DESCRIPCIÓN Y EVALUACIÓN DEL PROGRAMA ACTUAL DE CRIBADO NEONATAL PARA HSC.

El programa de cribado neonatal para HSC de la comunidad de Aragón ha ido evolucionando desde su incorporación en el año 2003. Desde octubre de 2008, tras ser optimizado y adaptado al cambio en la metodología de análisis, se ha mantenido sin modificaciones. A continuación, se detallan las características actuales y los resultados del programa.

Desde octubre de 2008 hasta mayo de 2015 se realizó el cribado neonatal de HSC a un total de 88483 RN.

En todo programa de cribado neonatal es importante controlar una serie de factores pre y post-analíticos fundamentales para que la rentabilidad del programa sea la adecuada. La manera de evaluar estos factores es a través de una serie de indicadores que permitan valorar etapas claves del proceso global del cribado, y así garantizar un diagnóstico precoz de la enfermedad para poder instaurar lo antes posible un tratamiento adecuado. En la **Tabla 54** se recogen los indicadores del programa de cribado neonatal correspondientes al periodo desde octubre de 2008 hasta mayo de 2015.

Tabla 54. *Indicadores de calidad pre y post-analíticos del programa de cribado neonatal.*

	<i>Mediana</i>	<i>RIC</i>
Edad a la extracción primera muestra (días)	2	2 - 3
Edad a la extracción segunda muestra (días)	13	10 - 16
Tiempo entre extracción y recepción en el laboratorio (días)	2	1 - 3
Tiempo de respuesta del laboratorio de cribado (días)	3	2 - 4
Edad del RN al informe final de resultados primera muestra (días)	7	6 - 9
Edad del RN al informe final de resultados segunda muestra (días)	18	15 - 22
Edad al diagnóstico (días)	8	6 - 10
Muestras válidas (%)	0,11	

En cuanto a los resultados obtenidos con el cribado neonatal de HSC entre octubre de 2008 y mayo de 2015, en la **Tabla 55** se detalla el recuento y porcentaje de aquellos RN a los que se repitió la prueba por estar fuera de los límites de normalidad en la primera muestra, y el recuento y porcentaje de los RN que tuvieron que ser derivados al pediatra endocrino al existir una sospecha de padecer HSC tras un resultado positivo en el cribado neonatal, bien directamente en la primera muestra al presentar niveles de 17OHP exageradamente elevados, o si en la segunda los niveles de 17OHP permanecieron elevados.

Tabla 55. RN que necesitan nueva extracción para confirmar resultado dudoso y RN derivados a pediatría por prueba de cribado neonatal alterada.

EG (semanas)	n	Repetición extracción		Derivados pediatría	
		Recuento	%	Recuento	%
<31	662	18	2,72	7	1,06
31-33	624	7	1,12	2	0,32
33-35	1690	44	2,60	11	0,65
35-36	1833	13	0,71	11	0,60
36-37	4191	43	1,03	30	0,72
>37	79483	587	0,74	81	0,10
Total	88483	712	0,80	137	0,16

El mayor porcentaje de repeticiones se encontró en los RN prematuros extremos, por debajo de 35 semanas de gestación, pero no se diferenciaron mucho de las muestras repetidas en otros grupos de EG, lo que reafirma el buen ajuste de los puntos de corte.

En la **Tabla 56** se indica la edad a la extracción tanto de la primera muestra como de la repetición, cuando fue necesaria y se indica, además, la concentración de 17OHP de los casos normales y positivos segmentado por grupos de EG.

Tabla 56. Edad a la extracción y niveles de 17OHP en primera extracción y repetición.

Edad a la extracción (días)	Primera muestra		Repetición	
	17OHP (nmol/L) mediana (RIC)		17OHP (nmol/L) mediana (RIC)	
EG (semanas)	Normal	Positivo	Normal	Positivo
<31	38,0 (18,4-68,0)	185,5 (169,0-211,0)	23,0 (19,8-30,0)	-
31-33	19,90(12,0-34,3)	107,0 (104,0-130,0)	18,3 (16,0-25,9)	-
33-35	13,5 (8,8-21,4)	63,2 (58,4-77,1)	20,5 (12,6-24,9)	64,4 (63,1-65,6)
35-36	10,5 (7,2-14,9)	60,4(51,7-69,5)	13,7 (10,0-19,5)	-
36-37	8,17 (6,03-11,1)	35,7 (33,7-41,6)	10,2 (7,80-12,2)	23,8 (17,9-30,5)
>37	5,9 (4,38-7,70)	19,2 (17,6-21,8)	9,44 (6,64-11,5)	19,8 (18,4-23,70)

Para valorar la eficacia diagnóstica del cribado de HSC en este periodo, se calculó VPP, VPN, especificidad, sensibilidad y VG de la prueba referidos a la detección de formas clásicas de HSC debidas a déficit de 21OH (**Tabla 57**).

Tabla 57. Eficacia diagnóstica actual del cribado neonatal para HSC.

	Octubre 2008
	Mayo 2015
VPP (%)	0,6
VPN (%)	100
Especificidad (%)	99,2
Sensibilidad (%)	100
VG (%)	99,2

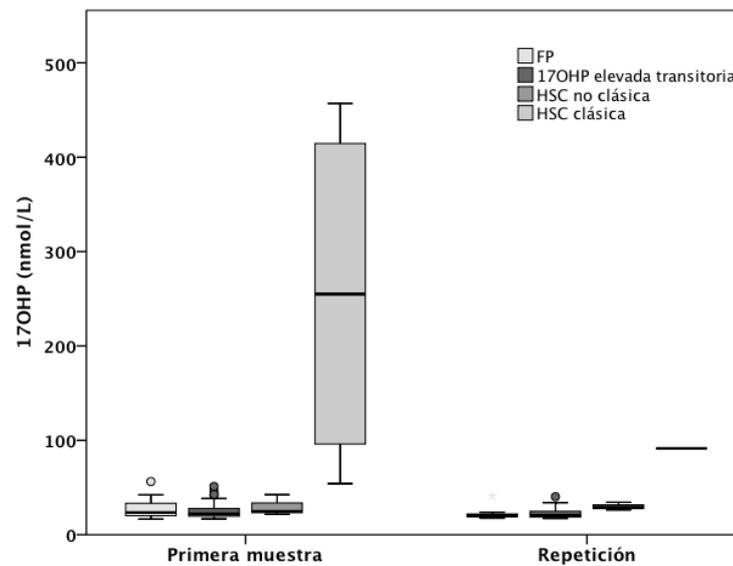
3.8. ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN DE LOS NIVELES DE 17OHP Y OTRAS ESPECIES RELACIONADAS DEPENDIENDO DE LA PATOLOGÍA DEL RN

En la población cribada entre octubre de 2008 y mayo de 2015, 4 de los RN fueron diagnosticados de la forma clásica de déficit de 21OH, y se identificaron otros 3 pacientes de formas no clásicas. Se estudió la evolución de los niveles de 17OHP en estos RN junto a los FP, unos cuyo nivel de 17OHP se normalizó ya en la segunda muestra de cribado (FPcribado), y otros que presentaron hiper-17-hidroxiprogesteronemia transitoria (hiper-17OHPemia). Se trata de RN que poseían niveles de 17OHP elevados y esta elevación perduró durante varios meses sin presentar defectos de la esteroidogénesis y se normalizaron de forma espontánea.

En la **Tabla 58** se recoge la concentración de 17OHP de los RN en función de la patología que sufren y de la muestra en la que se realiza la cuantificación, tanto en papel de filtro (prueba de cribado) como en suero (prueba de confirmación), de forma gráfica se pueden ver los resultados de la prueba de cribado en la **Figura 41**.

Tabla 58. Niveles de 17OHP en función de la patología del RN y la muestra.

	n	Cribado		Confirmación
		17OHP (nmol/L) mediana (RIC)		17OHP (ng/mL) mediana (RIC)
		Primera muestra	Repetición	Suero
FPcribado	14	23,5 (20,1 – 33,3)	20,2 (18,9 – 22,2)	6,8 (3,0 – 12,0)
hiper-17OHPemia	29	22,2 (19,6 – 27,7)	20,3 (18,7 – 24,9)	18,9 (14,2-20,7)
HSC no clásica	3	24,8 (21,8 – 42,4)	29,0 (26,2 – 34,4)	28,3 (23,2 – 30,2)
HSC clásica	4	255,0 (96,1 – 414,5)	91,4	68,6 (30,7 – 342,8)
K-W (p)		0,009	0,06	0,002

Figura 41. Niveles de 17OHP según el diagnóstico del RN.

En la primera muestra los paciente con déficit de 21OH clásica presentaron unos niveles de 17OHP mucho mayores que el resto de RN, demostrándose a través del test de Kruskal-Wallis (**Tabla 58**) que eran diferencias significativas. Estas diferencias se dieron entre los grupos: FP vs HSC Clásica ($p=0,025$) e hiper-17OHPemia transitoria vs HSC clásica ($p=0,005$). En la repetición del cribado estas diferencias ya no existían.

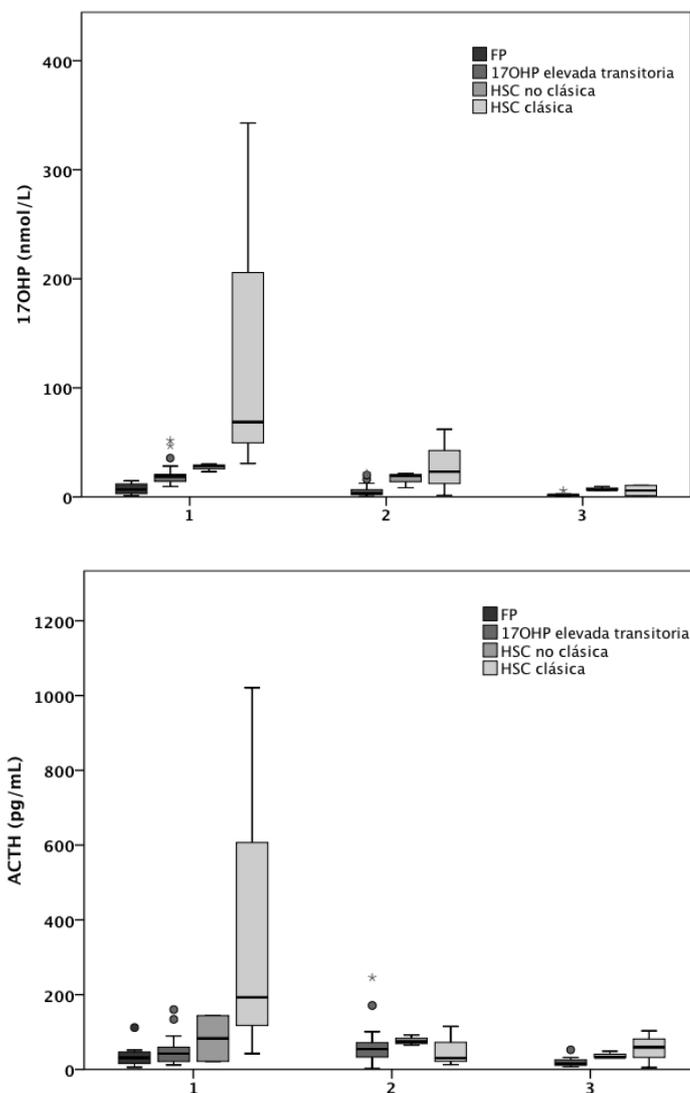
Para ver como estos RN evolucionaban en el tiempo, se analizaron medidas sucesivas de 17OHP en suero, durante los primeros meses de vida del niño. Se observó una reducción paulatina de los niveles de 17OHP en los RN con hiper-17OHPemia transitoria a diferencia de los RN con HSC no clásica en los que se mantenían más elevados, también disminuyeron los niveles de 17OHP en los RN con HSC clásica gracias al tratamiento. La evolución de los niveles de 17OHP en 3 medidas consecutivas se puede observar en la **Tabla 59** y **Figura 42** junto con las concentraciones de ACTH y cortisol. Los valores se clasifican en función de la patología que presenta el RN.

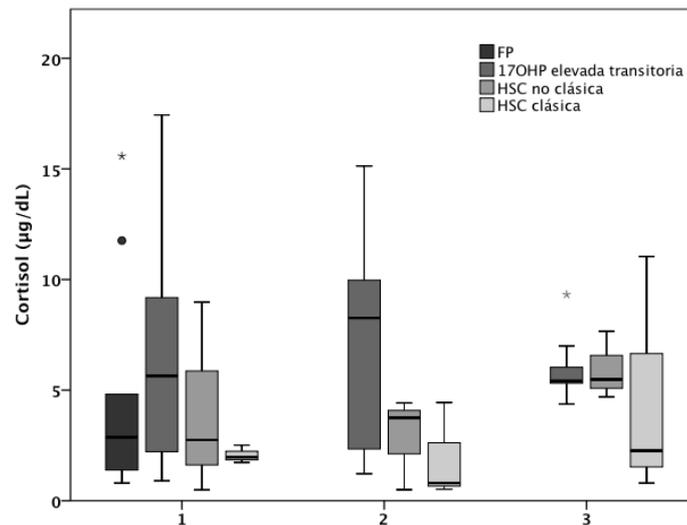
Todas las especies presentaron una distribución no normal (K-S: $p=0,000$).

Tabla 59. Medidas sucesivas de analitos de la esteroidogénesis suprarrenal.

	Edad (días)		17OHP (ng/mL)		ACTH (pg/mL)		Cortisol (µg/dL)	
			mediana	RIC	mediana	RIC	mediana	RIC
1	21 (16 - 29)	FPcribado	6,81	3,02 - 11,97	31,0	14,5 - 49,0	2,87	1,39 - 4,82
		Hiper-17OHPemia	18,86	14,22 - 20,67	42,1	21,1 - 59,6	5,64	2,22 - 9,18
		HSC no clásica	28,3	23,16 - 30,16	82,7	21,4 - 144,0	2,75	0,49 - 8,98
		HSC clásica	68,63	30,70 - 342,82	193	42,4 - 1021,0	1,97	1,73 - 2,51
2	70 (53 - 91)	Hiper-17OHPemia	3,2	2,04 - 5,74	54,4	31,4 - 69,4	7,84	1,83 - 9,60
		HSC no clásica	19,48	8,48 - 21,53	74,2	64,8 - 92,0	3,75	0,50 - 4,42
		HSC clásica	23,1	1,47 - 62,05	30,2	12,60 - 115,0	0,8	0,52 - 4,44
3	152 (114 - 175)	Hiper-17OHPemia	1,88	0,91 - 2,13	15,5	11,1 - 25,9	5,42	5,31 - 6,03
		HSC no clásica	6,48	6,33 - 9,58	32,3		5,48	4,70 - 7,66
		HSC clásica	5,88	1,16 - 10,59	59,3	5,0 - 103	2,26	0,80 - 11,0

Figura 42. Medidas sucesivas de analitos de la esteroidogénesis suprarrenal.





Se buscaron diferencias significativas entre las distintas patologías en cada una de las medidas a través del test de Kruskal-Wallis para los 3 analitos (**Tabla 60**).

Tabla 60. Diferencias significativas entre patologías del RN en cada medida.

medida	K-W (p)		
	17OHP	ACTH	Cortisol
1	0,00	0,122	0,337
2	0,053	0,351	0,065
3	0,057	0,201	0,685

Los niveles de 17OHP eran mucho más elevados en los RN que presentan HSC clásica. Se detectaron diferencias significativas sólo para el tiempo 1, y se debían a diferencias entre el grupo de los FP con el resto de categorías (FP vs hiper-17OHPemia transitoria $p=0.00$; FP vs HSC no clásica $p=0,003$; FP vs HSC clásica $p=0,00$), entre el resto de parejas no se encontraron diferencias significativas. Para todos los RN los niveles de 17OHP iban descendiendo a lo largo del tiempo, pero se observó que en los RN con hiper-17OHPemia transitoria los niveles de 17OHP se normalizaron ya en la segunda medida a los 70 (53 – 91) días de vida. En el tiempo 3 los niveles de 17OHP de los RN con forma clásica son incluso menores que los de la forma no clásica debido al tratamiento sustitutivo con hidrocortisona.

En el caso de los niveles de ACTH y cortisol ocurrió algo similar, en un principio la concentración de estos analitos en los RN con HSC clásica diferían mucho del resto, en el caso de ACTH presentaban valores mucho mayores, en cambio para el cortisol eran los

más bajos, pero a medida que pasa el tiempo estas concentraciones se iban igualando, llegando incluso a los niveles de los demás RN. A pesar de existir diferencias entre las distintas patologías no eran significativas en ninguno de los tiempos evaluados.

3.9. DETECCIÓN Y ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DE FACTORES PERINATALES EN LOS VALORES ANORMALMENTE ELEVADOS DE 17OHP.

En los RN pretérmino (EG < 37 semanas de gestación) se observa una gran variabilidad en los niveles de 17OHP. La estratificación de los puntos de corte en función de la EG proporciona una gran reducción de la tasa de FP, pero no explica esa gran dispersión en la concentración de 17OHP.

En esta parte del estudio se pretendió detectar causas de la variabilidad de los niveles de 17OHP estudiando factores del parto, maternos, fetales y neonatales. Se analizó la influencia de estas variables en los valores anormalmente elevados de 17OHP, estudiando si estas variables potencialmente influyentes aparecían en mayor proporción en los RN con valores más altos de 17OHP (por encima de los percentiles 75 y 90).

Población de estudio

La población utilizada para esta parte del estudio fue de 811 RN que debían cumplir estas condiciones: no padecer HSC, que la prueba de cribado neonatal se hubiese realizado en el Hospital Universitario Miguel Servet y que el neonato hubiese nacido en este mismo centro para disponer así de la hoja de parto y el historial del RN, y recoger la información referente a las variables que van a ser analizadas. Estas variables figuran en el apartado 18.3. Variables del estudio.

En las siguientes tablas se indican los descriptivos de las variables de la población estudiada, tanto cuantitativas como cualitativas.

Tabla 61. Descriptivos de las variables cuantitativas.

Variable	K-S (p)	n	Mediana	RIC
17OHP	0.000	811	11,7 (nmol/L)	7,30 – 20,60
EG	0.000	811	36,5 (semanas)	35,0 – 38,6

Tabla 62. Descriptivos de los factores maternos y del parto.

FACTORES MATERNOS y DEL PARTO	%
Patología de cordón	17,6
Patología de placenta	48,6
Patología de Útero	8,8
Patología en el parto	33,2
Patología del embarazo	6,5
Enfermedad materna del embarazo	17,9
Estado hipertensivo del embarazo	7,9
Inseminación artificial	9,3
Enfermedad materna	14,1

Tabla 63. Descriptivos de los factores fetales

FACTORES FETALES	%
Patología fetal	7,5
Marcadores sufrimiento fetal positivos	6,0

Tabla 64. Descriptivos de los factores neonatales

FACTORES NEONATALES	%
Patología respiratoria	17,1
Patología renal	0,7
Patología digestiva	1,5
Patología cardíaca	6,6
Ictericia	28,0
Anemia	7,3
Encefalopatía	3,2
Hemorragia cerebral	2,7
Hipotensión arterial	2,0
Sepsis	10,6

Tabla 65. Descriptivos de otros factores perinatales.

OTROS FACTORES PERINATALES	%
Multiparidad	20,7
Medicación	19,2
Tipo de Parto	
Eutócico	64,0
Cesárea	24,9
Instrumental	8,1
Ingreso	
UCI	15,7
Neonatal	17,3
Maternidad	67,0

Alimentación	Artificial	15,6	
	Dieta absoluta	6,3	
	Materna	49,5	
	Mixta	28,6	
Puntuación APGAR	<4	3,0	
	1 minuto	4-7	10,0
		>7	87,0
		<4	0,1
	5 minutos	4-7	1,6
		>7	98,2

Se comparó el grupo de RN con concentraciones de 17OHP menores al punto de corte para los RN a término (17OHP < 16,6 nmol/L) con aquellos que sin padecer HSC tenían concentraciones de 17OHP muy elevadas, por encima del percentil 75 y 90 en cada grupo de EG.

Para realizar esta clasificación, se calculó, en primer lugar, los percentiles 75 y 90 de 17OHP para los grupos de EG.

Tabla 66. Percentiles 75 y 90 de 17OHP para cada grupo de EG.

EG (semanas)	n	Percentil 75 17OHP (nmol/L)	Percentil 90 17OHP (nmol/L)
<31	84	95,95	145,69
31-33	58	62,42	92,43
33-35	116	24,55	52,46
35-36	104	17,78	29,68
36-37	96	11,70	17,45
>37	353	13,24	18,49

En los grupos de RN con EG superior a 37 y EG entre 36 y 37 semanas, el valor del percentil 75 era menor que el punto de corte de 17OHP en los RN a término (16,6 nmol/L). En estas circunstancias, ambos grupos se solaparían, por lo que no podrían ser comparados; consecuentemente, estos grupos no se tuvieron en cuenta en el estudio.

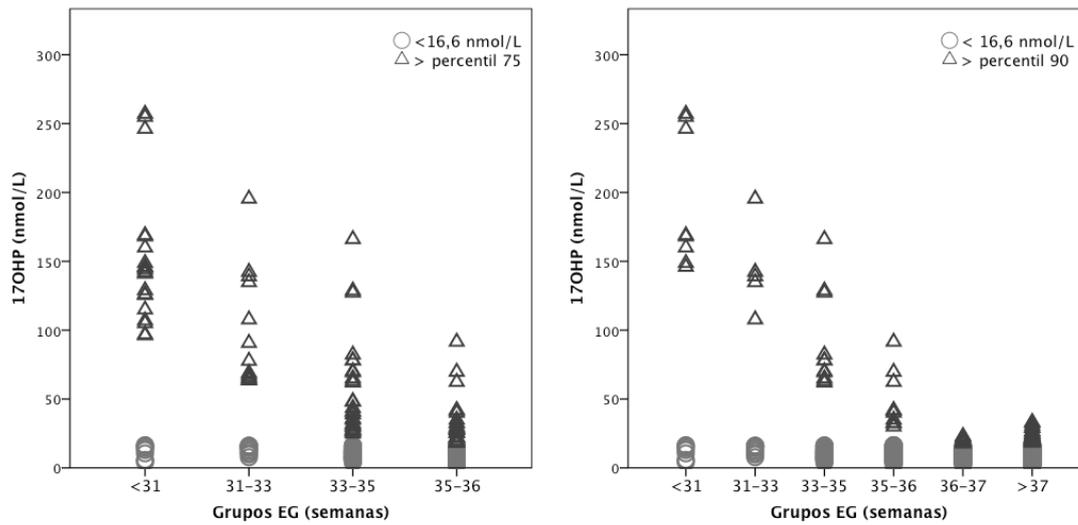
Los grupos entre los que se estudió la existencia de diferencias significativas se crearon de la siguiente manera:

- por un lado se unificaron los RN con valores de 17OHP inferiores a 16,6 nmol/L cualquiera que sea su EG,

- por otro, se crearon dos grupos más al unir los RN que poseían valores de 17OHP por encima de los percentiles 75 y 90 para cada grupo de EG. De esta forma se pudo controlar la variabilidad de los niveles de 17OHP en función de la EG.

En la **Figura 43** se puede observar la distribución de los niveles de 17OHP de los grupos que fueron comparados.

Figura 43. Distribución de niveles de 17OHP.



En la Tabla 67 se describen los grupos creados.

Tabla 67. Descriptivos de los grupos que van a ser comparados en función de la concentración de 17OHP.

17OHP	< 16,6 nmol/L		> p. 75		> p. 90	
n	539		87		78	
	Mediana	RIC	Mediana	RIC	Mediana	RIC
EG (semanas)	37,5	36,0 – 39,1	34,0	32,0 – 35,3	36,6	34,0 – 39,0
17OHP (nmol/L)	8,62	6,09 – 11,7	63,72	30,02 – 125,50	27,76	21,15 – 77,98

Definidos los grupos que van a ser comparados, se determinó qué variables aparecían en mayor proporción (de manera significativa) en los grupos de 17OHP elevada. Estas variables se identificaron como variables influyentes, y explicaban el aumento anormal de los niveles de 17OHP no debidos a HSC.

Las diferencias en las proporciones se estudiaron entre:

Resultados

- el grupo de niveles de 17OHP normales (<16,6 nmol/L) y el grupo de 17OHP elevados (> p.75); y,

- entre el grupo de niveles de 17OHP normales (<16,6 nmol/L) y el grupo de 17OHP muy elevados (> p.90).

Se calculó el porcentaje de RN que mostraba cada una de las variables a analizar en función de los grupos descritos en la Tabla 67. Estas proporciones se compararon mediante el test de Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher según procediese.

Se analizaron por separado los RN prematuros y los RN a término.

Alguna de las variables analizadas tenían una presencia muy baja, por este motivo se agruparon en categorías más amplias y se hizo un primer estudio analizando estos grupos más generales. Los grupos generales y las categorías que contienen cada uno se recogen en el apartado 18.3. Variables del estudio.

En las tablas que se recogen a continuación, para cada variable se indica el recuento de los RN que mostraban la patología (SI) y el recuento de los que no la mostraban (NO) para cada grupo de concentración de 17OHP. En la casilla % se recoge la proporción de RN que presentaban la patología indicada, que son las que se compararon estadísticamente.

Factores maternos y del parto

En la **Tabla 68** se recoge el recuento de cada una de las variables relacionadas con la madre y el parto, en función del nivel de 17OHP que presentan. Se incluyen los resultados del estudio estadístico en la **Tabla 69**, en todos los casos se utilizó el test de Chi-cuadrado (χ^2).

Tabla 68. Recuento de los factores maternos y del parto.

		PREMATUROS				A TÉRMINO	
		p.75		p.90		p.90	
		<16,6 nmol/L	>p.75	<16,6 nmol/L	>p.90	<16,6 nmol/L	>p.90
Patología de Cordón	NO	136	85	180	38	229	31
	SI	19	4	31	3	74	4
	%	12,3	4,5	14,7	7,3	24,4	11,4
Patología de Placenta	NO	78	58	101	29	161	16
	SI	77	31	110	12	142	19

	%	49,7	34,8	52,1	29,3	46,9	54,3
Patología de Útero	NO	134	80	184	35	284	34
	SI	21	9	27	6	19	1
	%	13,5	10,1	12,8	14,6	6,3	2,9
Parto	NO	101	48	145	22	232	20
	SI	54	41	66	19	71	15
	%	34,8	46,1	31,3	46,3	23,4	42,9
Embarazo	NO	147	83	202	39	281	32
	SI	8	6	9	2	22	3
	%	5,2	6,7	4,3	4,9	7,3	8,6
Enfermedad durante embarazo	NO	118	73	163	34	261	26
	SI	37	16	48	7	42	9
	%	23,9	18,0	22,7	17,1	13,9	25,7
Estado hipertensivo del embarazo	NO	141	78	189	38	289	34
	SI	14	11	22	3	14	1
	%	9,0	12,4	10,4	7,3	4,6	2,9
Inseminación artificial	NO	138	71	186	33	299	34
	SI	17	18	25	8	4	1
	%	11,0	20,2	11,8	19,5	1,3	2,9
Enfermedad materna	NO	124	81	167	35	270	31
	SI	31	8	44	6	33	4
	%	20,0	9,0	20,9	14,6	10,9	11,4

Tabla 69. Estudio estadístico para los factores maternos y del parto.

		PREMATUROS		A TÉRMINO
		p.75	p.90	p.90
Patología de cordón	Sig.	0,05 ^{x2}	0,21 ^{x2}	0,08 ^{x2}
Patología de placenta	Sig.	0,03 ^{x2}	0,01 ^{x2}	0,41 ^{x2}
Patología de útero	Sig.	0,43 ^{x2}	0,75 ^{x2}	0,42 ^{x2}
Parto	Sig.	0,08 ^{x2}	0,06 ^{x2}	0,01 ^{x2}
Embarazo	Sig.	0,61 ^{x2}	0,86 ^{x2}	0,78 ^{x2}
Enfermedad durante embarazo	Sig.	0,28 ^{x2}	0,42 ^{x2}	0,06 ^{x2}
Estado hipertensivo del embarazo	Sig.	0,41 ^{x2}	0,54 ^{x2}	0,63 ^{x2}
Inseminación artificial	Sig.	0,05 ^{x2}	0,18 ^{x2}	0,48 ^{x2}
Enfermedad materna	Sig.	0,02 ^{x2}	0,36 ^{x2}	0,92 ^{x2}
Patología fetal	Sig.	0,63 ^{x2}	0,18 ^{x2}	0,85 ^{x2}
Marcadores sufrimiento fetal positivos	Sig.	0,63 ^{x2}	0,80 ^{x2}	0,63 ^{x2}

Se observaron diferencias significativas para patologías de cordón, placenta, parto, enfermedad materna e inseminación artificial. Sólo se dieron en RN prematuros, excepto en patología relacionada con el parto, donde se detectó un aumento de niveles de 17OHP en los RN a término.

Para la patología de cordón, placenta y enfermedad materna existían diferencias significativas, pero la mayor proporción de cada variable se observó en el grupo con 17OHP < 16,6 nmol/L. Por lo tanto, pese a que hubiese alguna de estas patologías, los niveles de 17OHP fueron normales en la mayor parte de los RN, así es que, no implicaban un aumento en los niveles de 17OHP.

Para **patología en el parto e inseminación artificial** se detectaron diferencias significativas debidas a una mayor proporción de estas variables en el grupo de 17OHP elevada. Se pudo afirmar por tanto, que patología en el parto e inseminación artificial provocaban una elevación de los niveles de 17OHP.

Para aquellas variables que permitieron un estudio individualizado al presentarse en una proporción adecuada (al menos el 1% de los RN presentaban la característica que se analizaba) se realizó un análisis más detallado (Tabla 70). Los resultados estadísticos se recogen en la

Tabla 71, en cada caso se indica si se utilizó Chi-cuadrado (χ^2) o prueba exacta de Fisher (F).

Tabla 70. Recuento de los factores maternos y del parto en función de la concentración de 17OHP detallado.

		PREMATUROS				A TÉRMINO	
		p.75		p.90		p.90	
		<16,6 nmol/L	>p.75	<16,6 nmol/L	>p.90	<16,6 nmol/L	>p.90
CORDÓN							
Vueltas de cordón	NO	140	88	184	41	232	31
	SI	15	1	27	0	71	4
	%	9,7	1,1	12,8	0,0	23,4	11,4
PLACENTA							
Ruptura prematura de membranas	NO	94	64	122	31	191	26
	SI	61	25	89	10	112	9
	%	39,4	28,1	42,2	24,4	37,0	25,7
Oligohidramnios sin ruptura de membranas	NO	150	87	205	40	293	34
	SI	5	2	6	1	10	1
	%	3,2	2,2	2,8	2,4	3,3	2,9
Polihidramnios	NO	152	88	208	41	300	34
	SI	3	1	3	0	3	1
	%	1,9	1,1	1,4	0,0	1,0	2,9

	NO	153	87	209	41	303	35
Placenta previa con hemorragia	SI	2	2	2	0	0	0
	%	1,3	2,2	0,9	0,0	0,0	0,0
	NO	155	88	210	41	279	27
Líquido amniótico meconial	SI	0	1	1	0	24	8
	%	0,0	1,1	0,5	0,0	7,9	22,9
	NO	149	88	201	41	301	35
Corioamnionitis	SI	6	1	10	0	2	0
	%	3,9	1,1	4,7	0,0	0,7	0,0
ÚTERO							
	NO	153	83	209	38	303	35
Incompetencia cervical	SI	2	6	2	3	0	0
	%	1,3	6,7	0,9	7,3	0,0	0,0
	NO	137	88	187	40	285	34
Cicatriz uterina de intervención quirúrgica anterior	SI	18	1	24	1	18	1
	%	11,6	1,1	11,4	2,4	5,9	2,9
PARTO							
	NO	148	87	198	39	287	30
Parto retardado después de ruptura espontánea de membranas	SI	7	2	13	2	16	5
	%	4,5	2,2	6,2	4,9	5,3	14,3
	NO	129	64	181	29	303	35
Parto prematuro con inicio espontáneo de trabajo de parto	SI	26	25	30	12	0	0
	%	16,8	28,1	14,2	29,3	0,0	0,0
	NO	153	87	209	39	300	35
Parto precipitado	SI	2	2	2	2	3	0
	%	1,3	2,2	0,9	4,9	1,0	0,0
	NO	154	85	208	39	272	30
Contracciones poco satisfactorias. Parto intermitente	SI	1	4	3	2	31	5
	%	0,6	4,5	1,4	4,9	10,2	14,3
	NO	130	63	183	31	300	35
Amenaza de parto prematuro	SI	25	26	28	10	3	0
	%	16,1	29,2	13,3	24,4	1,0	0,0
	NO	130	77	182	35	286	32
Postural	SI	25	12	29	6	17	3
	%	16,1	13,5	13,7	14,6	5,6	8,6
	NO	146	88	199	40	287	35
Fiebre intraparto	SI	9	1	12	1	16	0
	%	5,8	1,1	5,7	2,4	5,3	0,0
	NO	153	89	209	41	300	32
Macrosoma. Desproporción fetopélvica	SI	2	0	2	0	3	3
	%	1,3	0,0	0,9	0,0	1,0	8,6
EMBARAZO							
	NO	149	83	205	39	303	35
Metrorragia	SI	6	6	6	2	0	0
	%	3,9	6,7	2,8	4,9	0,0	0,0
	NO	154	89	210	41	284	32
Hiperdatia	SI	1	0	1	0	19	3
	%	0,6	0,0	0,5	0,0	6,3	8,6

Tabla 71. Estudio estadístico para los factores maternos y del parto.

	PREMATUROS		A TÉRMINO
	P.75	P.90	P.90
CORDÓN			
Vueltas de cordón	Sig. 0,07 χ^2	0,03 ^F	0,19 χ^2
PLACENTA			
Ruptura prematura de membranas	Sig. 0,01 χ^2	0,02 χ^2	0,17 χ^2
Oligohidramnios sin ruptura de membranas	Sig. 0,50 ^F	0,68 ^F	0,68 ^F
Polihidramnios	Sig. 0,52 ^F	0,59 ^F	0,36 ^F
Placenta previa con hemorragia	Sig. 0,46 ^F	0,70 ^F	.
Líquido amniótico meconial	Sig. 0,37 ^F	0,84 ^F	0,01 ^F
Corioamnionitis	Sig. 0,21 ^F	0,16 ^F	0,80 ^F
ÚTERO			
Incompetencia cervical	Sig. 0,03 ^F	0,03 ^F	.
Cicatriz uterina de intervención quirúrgica anterior	Sig. 0,00 χ^2	0,06 χ^2	0,39 ^F
PARTO			
Parto retardado después de ruptura espontánea de membranas	Sig. 0,30 ^F	0,55 ^F	0,06 ^F
Parto prematuro con inicio espontáneo de trabajo de parto	Sig. 0,04 χ^2	0,02 ^F	.
Parto precipitado	Sig. 0,46 ^F	0,13 ^F	0,72 ^F
Contracciones poco satisfactorias. Parto intermitente, irregular.	Sig. 0,06 ^F	0,19 ^F	0,31 ^F
Amenaza de parto prematuro	Sig. 0,02 χ^2	0,04 ^F	0,72 ^F
Postural	Sig. 0,58 χ^2	0,88 ^F	0,34 ^F
Fiebre intraparto	Sig. 0,07 ^F	0,34 ^F	0,17 ^F
Macrosoma. Desproporción fetopélvica	Sig. 0,40 ^F	0,70 ^F	0,02 ^F
EMBARAZO			
Metrorragia	Sig. 0,32 ^F	0,50 ^F	.
Hiperdatia	Sig. 0,45 ^F	0,66 ^F	0,60 ^F

Hubo diferencias significativas para las variables vuelta de cordón, ruptura prematura de membranas, líquido amniótico meconial, incompetencia cervical, cicatriz uterina de intervención quirúrgica anterior, parto prematuro con inicio espontáneo de trabajo de parto, amenaza de parto prematuro y macrosoma.

Las diferencias significativas entre proporciones se dieron en RN prematuros, excepto para líquido amniótico meconial y macrosoma, donde aparecieron en los RN a término.

La mayor proporción de RN que presentan vuelta de cordón, ruptura prematura de membranas y cicatriz uterina de intervención quirúrgica anterior, apareció en el grupo con 17OHP < 16,6 nmol/L. Por lo tanto, pese a que existiera alguna de estas patologías los niveles de 17OHP eran normales en la mayor parte de los RN de manera significativa. La presencia de estas variables no implicaban un aumento en los niveles de 17OHP.

Para las variables **líquido amniótico meconial, incompetencia cervical, parto prematuro con inicio espontáneo de trabajo de parto, amenaza de parto prematuro y macrosoma**, aparecieron en una mayor proporción y de forma significativa en el grupo de 17OHP elevada. De esta manera, se pudo afirmar que estos factores provocaban una elevación de los niveles de 17OHP.

Factores fetales

En la **Tabla 72** se presenta el recuento de las variables fetales estudiadas, en función del nivel de 17OHP que presentaron. Los resultados estadísticos se recogen en la **Tabla 73**, en todos los casos se utilizó el test de Chi-cuadrado (χ^2).

Tabla 72. Recuento de los factores fetales en función de la concentración de 17OHP.

		PREMATUROS				A TÉRMINO	
		p.75		p.90		p.90	
		<16,6 nmol/L	>p.75	<16,6 nmol/L	>p.90	<16,6 nmol/L	>p.90
Patología fetal	NO	139	78	194	35	288	33
	SI	16	11	17	6	15	2
	%	10,3	12,4	8,1	14,6	5,0	5,7
Marcadores sufrimiento fetal positivos	NO	140	82	193	37	289	34
	SI	15	7	18	4	14	1
	%	9,7	7,9	8,5	9,8	4,6	2,9

Tabla 73. Estudio estadístico para los factores fetales.

	Sig.	PREMATUROS		A TÉRMINO
		p.75	p.90	p.90
Patología fetal	Sig.	0,63 ^{χ^2}	0,18 ^{χ^2}	0,85 ^{χ^2}
Marcadores sufrimiento fetal positivos	Sig.	0,63 ^{χ^2}	0,80 ^{χ^2}	0,63 ^{χ^2}

No se observaron diferencias significativas para ninguna de las variables fetales.

Factores neonatales

En la **Tabla 74** se presenta el recuento de cada una de las variables relacionadas con el neonato, en función del nivel de 17OHP que presentaron. Los resultados estadísticos se recogen en la

Tabla 75, en cada caso se indica si se utilizó Chi-cuadrado (χ^2) o prueba exacta de Fisher (F).

Tabla 74. Recuento de los factores neonatales.

		PREMATUROS				A TÉRMINO	
		p.75		p.90		p.90	
		<16,6 nmol/L	>p.75	<16,6 nmol/L	>p.90	<16,6 nmol/L	>p.90
Patología respiratoria	NO	129	42	185	25	298	33
	SI	24	45	24	16	5	2
	%	15,7	51,7	11,5	39,0	1,7	5,7
Patología renal	NO	152	84	208	40	303	35
	SI	1	3	1	1	0	0
	%	0,7	3,4	0,5	2,4	0,0	0,0
Patología digestiva	NO	151	82	206	39	303	34
	SI	2	5	3	2	0	1
	%	1,3	5,7	1,4	4,9	0,0	2,9
Patología cardiaca	NO	140	72	196	33	299	34
	SI	13	15	13	8	4	1
	%	8,5	17,2	6,2	19,5	1,3	2,9
Ictericia	NO	98	36	138	23	298	32
	SI	55	51	71	18	5	3
	%	35,9	58,6	34,0	43,9	1,7	8,6
Anemia	NO	145	64	200	30	303	34
	SI	8	23	9	11	0	1
	%	5,2	26,4	4,3	26,8	0,0	2,9
Encefalopatía	NO	148	76	204	36	303	35
	SI	5	11	5	5	0	0
	%	3,3	12,6	2,4	12,2	0,0	0,0
Hemorragia cerebral	NO	151	77	207	37	303	35
	SI	2	10	2	4	0	0
	%	1,3	11,5	1,0	9,8	0,0	0,0
Hipotensión arterial	NO	152	82	208	39	303	34
	SI	1	5	1	2	0	1
	%	0,7	5,7	0,5	4,9	0,0	2,9
Sepsis	NO	138	66	190	32	302	32
	SI	15	21	19	9	1	3

%	9,8	24,1	9,1	22,0	0,3	8,6
---	-----	------	-----	------	-----	-----

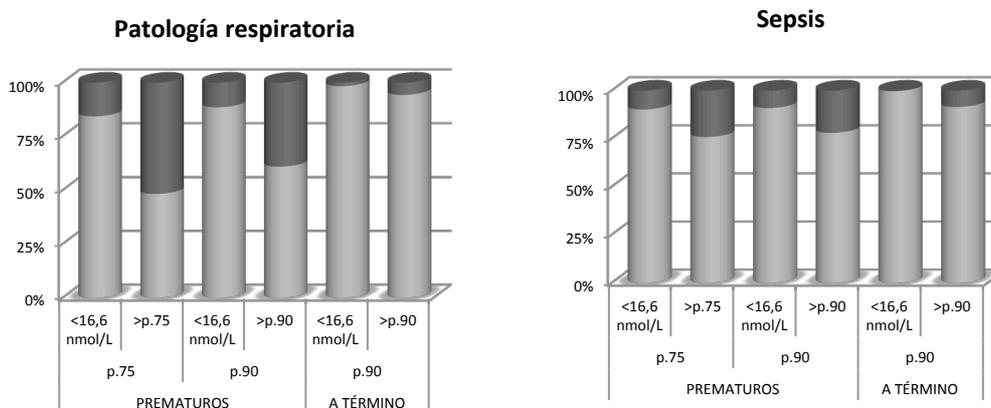
Tabla 75. Estudio estadístico para los factores neonatales.

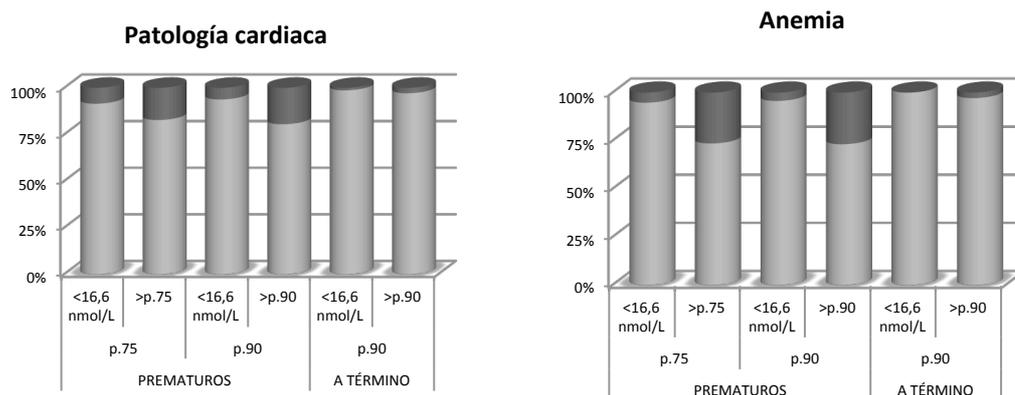
	Sig.	PREMATUROS		A TÉRMINO
		P.75	P.90	P.90
Patología respiratoria	Sig.	0,00^{x2}	0,00^{x2}	0,16 ^F
Patología renal	Sig	0,14 ^F	0,30 ^F	-
Patología digestiva	Sig	0,06^F	0,19 ^F	0,10 ^F
Patología cardiaca	Sig	0,04^{x2}	0,01^F	0,42 ^F
Ictericia	Sig	0,00^{x2}	0,23 ^{x2}	0,04^F
Anemia	Sig	0,00^{x2}	0,00^F	0,10 ^F
Encefalopatía	Sig	0,01^{x2}	0,01^F	-
Hemorragia cerebral	Sig	0,00^F	0,01^F	-
Hipotensión arterial	Sig	0,03^F	0,07 ^F	0,10 ^F
Sepsis	Sig	0,00^{x2}	0,02^F	0,00^F

Para todas las variables excepto patología renal se detectaron diferencias significativas debido a que aparecían en mayor proporción en el grupo de 17OHP elevada. A la vista de estos resultados se puede afirmar que **cualquiera de estas patologías que presente un RN prematuro** va a provocar un aumento en los niveles de 17OHP.

A continuación se representan gráficamente aquellas patologías para las que las diferencias son más evidentes.

Figura 44. Presencia de distintos factores neonatales, en función de los niveles de 17OHP.





Otros factores perinatales

En la **Tabla 76** se refleja el recuento de otras variables posiblemente influyentes en la elevación de la concentración de 17OHP. Los resultados estadísticos se recogen en la **Tabla 77**, en todos los casos se utilizó el test de Chi-cuadrado (χ^2).

Tabla 76. Recuento de otros factores perinatales en función de la concentración de 17OHP.

		PREMATUROS				A TÉRMINO		
		p.75		p.90		p.90		
		<16,6 nmol/L	>p.75	<16,6 nmol/L	>p.90	<16,6 nmol/L	>p.90	
Multiparidad	NO	107	49	148	21	292	34	
	SI	49	40	64	20	11	1	
	%	31,4	44,9	30,2	48,8	3,6	2,9	
Transfusión	NO	100	50	137	24	188	17	
	SI	3	18	3	7	1	1	
	%	2,9	26,5	2,1	22,6	0,5	5,6	
Medicación	NO	64	17	97	10	160	13	
	SI	24	45	24	19	2	4	
	%	27,3	72,6	19,8	65,5	1,2	23,5	
Abortos anteriores	NO	105	61	146	28	239	25	
	SI	51	28	66	13	64	10	
	%	32,7	31,5	31,1	31,7	21,1	28,6	
PARTO	Cesárea	NO	103	53	144	26	273	30
		SI	53	36	68	15	30	5
		%	34,0	40,4	32,1	36,6	9,9	14,3
	Instrumental	NO	143	85	194	38	275	27
		SI	13	4	18	3	28	8
		%	8,3	4,5	8,5	7,3	9,2	22,9
	Eutócico	NO	69	45	90	21	66	13
		SI	87	44	122	20	237	22
		%	55,8	49,4	57,5	48,8	78,2	62,9

INGRESO	UCI	NO	143	48	199	24	303	33
		SI	13	41	13	17	0	2
		%	8,3	46,1	6,1	41,5	0,0	5,7
	Neonatal	NO	93	62	147	29	299	33
		SI	63	27	65	12	4	2
		%	40,4	30,3	30,7	29,3	1,3	5,7
	Maternidad	NO	76	68	78	29	4	4
		SI	80	21	134	12	299	31
		%	51,3	23,6	63,2	29,3	98,7	88,6
ALIMENTACIÓN	Alimentación artificial	NO	114	72	163	29	278	33
		SI	42	17	49	12	25	2
		%	26,9	19,1	23,1	29,3	8,3	5,7
	Dieta absoluta	NO	150	66	206	32	303	34
		SI	6	23	6	9	0	1
		%	3,8	25,8	2,8	22,0	0,0	2,9
	Alimentación materna	NO	120	79	154	36	62	9
		SI	36	10	58	5	241	26
		%	23,1	11,2	27,4	12,2	79,5	74,3
	Alimentación mixta	NO	84	50	113	26	266	29
		SI	72	39	99	15	37	6
		%	46,2	43,8	46,7	36,6	12,2	17,1
APGAR 1 min	<4	NO	149	85	195	35	335	39
		SI	6	8	6	5	2	0
		%	3,87	8,60	2,99	12,50	0,59	0,00
	4 - 6	NO	134	81	178	33	321	35
		SI	21	12	23	7	16	4
		%	13,55	12,90	11,44	17,50	4,75	10,26
	7 -10	NO	30	23	32	15	21	4
		SI	125	70	169	25	316	35
		%	80,65	75,27	84,08	62,50	93,77	89,74
APGAR 5 min	<4	NO	155	93	201	40	336	39
		SI	0	0	0	0	1	0
		%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30	0,00
	4 - 6	NO	154	87	200	37	337	38
		SI	1	6	1	3	0	1
		%	0,65	6,45	0,50	7,50	0,00	2,56
	7 -10	NO	4	9	4	6	4	1
		SI	151	84	197	34	333	38
		%	97,42	90,32	98,01	85,00	98,81	97,44

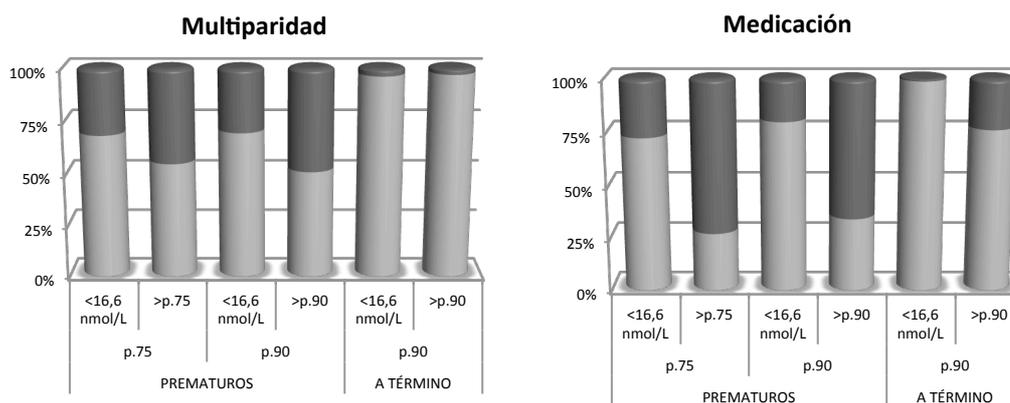
Tabla 77. Estudio estadístico para otros factores perinatales.

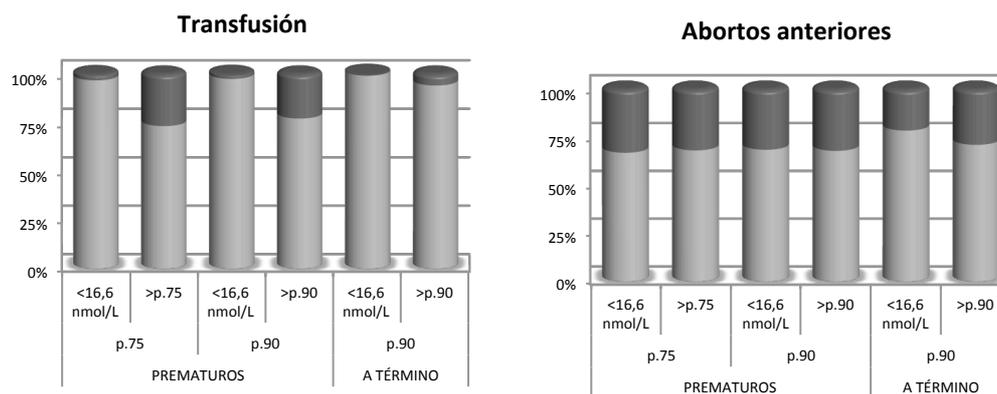
		PREMATUROS		A TÉRMINO
		P.75	P.90	P.90
Multiparidad	Sig.	0,03	0,02	0,82
Transfusión	Sig.	0,00	0,00	0,04
Medicación	Sig.	0,00	0,00	0,00
Abortos anteriores	Sig.	0,84	0,94	0,31
Tipo de parto	Sig.	0,28	0,39	0,06
Ingreso	Sig.	0,00	0,00	0,00
Alimentación	Sig.	0,00	0,00	0,02
APGAR 1 min	Sig.	0,28	0,01	0,32
APGAR 5 min	Sig.	0,01	0,00	0,01

Del análisis de las tablas precedentes se observa que existen diferencias significativas para la **multiparidad, medicación y transfusión**. La medicación afectaba a todos los RN, la multiparidad y transfusión sólo a los RN prematuros. Las diferencias detectadas se debieron a que estas variables se presentan con mayor proporción en el grupo de 17OHP elevada, por lo tanto, son factores que provocaban una elevación de los niveles de 17OHP.

En las figuras siguientes se representan los resultados de estas variables.

Figura 45. Presencia de otros factores perinatales en función de los niveles de 17OHP.





El resto de las variables analizadas son multivariadas por lo que se hizo un estudio más profundo. Se observaron diferencias significativas para tipo de ingreso, tipo de alimentación y puntuación APGAR, tanto a 1 minuto como a 5 minutos, en el grupo de RN prematuros. En el grupo de RN a término, también se observaron diferencias significativas en las variables tipo de ingreso, tipo de alimentación y puntuación APGAR a los 5 minutos.

Para completar el estudio de estas variables multivariadas se evaluó lo que ocurría con cada una de las categorías individuales. En la **Tabla 78** se recogen los resultados estadísticos, en cada caso se indica si se utilizó Chi-cuadrado (χ^2) o prueba exacta de Fisher (F).

Tabla 78. Estudio estadístico para otros factores perinatales detallado.

		PREMATUROS		A TÉRMINO
		P.75	P.90	P.90
TIPO DE PARTO	Cesárea Sig.	0,99 ^{χ^2}	0,84 ^{χ^2}	0,30 ^{χ^2}
	Instrumental Sig.	0,07 ^{χ^2}	0,12 ^{χ^2}	0,75 ^{χ^2}
	Eutócico Sig.	0,12 ^{χ^2}	0,06 ^{χ^2}	0,23 ^{χ^2}
INGRESO	UCI Sig.	0,00^{χ^2}	0,00^{χ^2}	0,00^{χ^2}
	Neonatal Sig.	0,12 ^{χ^2}	0,86 ^{χ^2}	0,06 ^{χ^2}
	Maternidad Sig.	0,00^{χ^2}	0,00^{χ^2}	0,00^{χ^2}
ALIMENTACIÓN	Alimentación artificial Sig.	0,17 ^{χ^2}	0,40 ^{χ^2}	0,60 ^{χ^2}
	Dieta absoluta Sig.	0,00^{χ^2}	0,00^{χ^2}	0,00^{χ^2}
	Alimentación materna Sig.	0,02^{χ^2}	0,04^{χ^2}	0,47 ^{χ^2}
	Alimentación mixta Sig.	0,72 ^{χ^2}	0,23 ^{χ^2}	0,41 ^{χ^2}
APGAR 1 min	<4 Sig.	0,118 ^{χ^2}	0,021^F	0,803 ^F
	4-7 Sig.	0,885 ^{χ^2}	0,289 ^{χ^2}	0,141 ^F
	>7 Sig.	0,317 ^{χ^2}	0,002^{χ^2}	0,253 ^F

	<4 Sig.	-	-	0,896 ^F
APGAR 5 min	4-7 Sig.	0,012^F	0,015^F	0,104 ^F
	>7 Sig.	0,015^{X2}	0,002^F	0,423 ^F

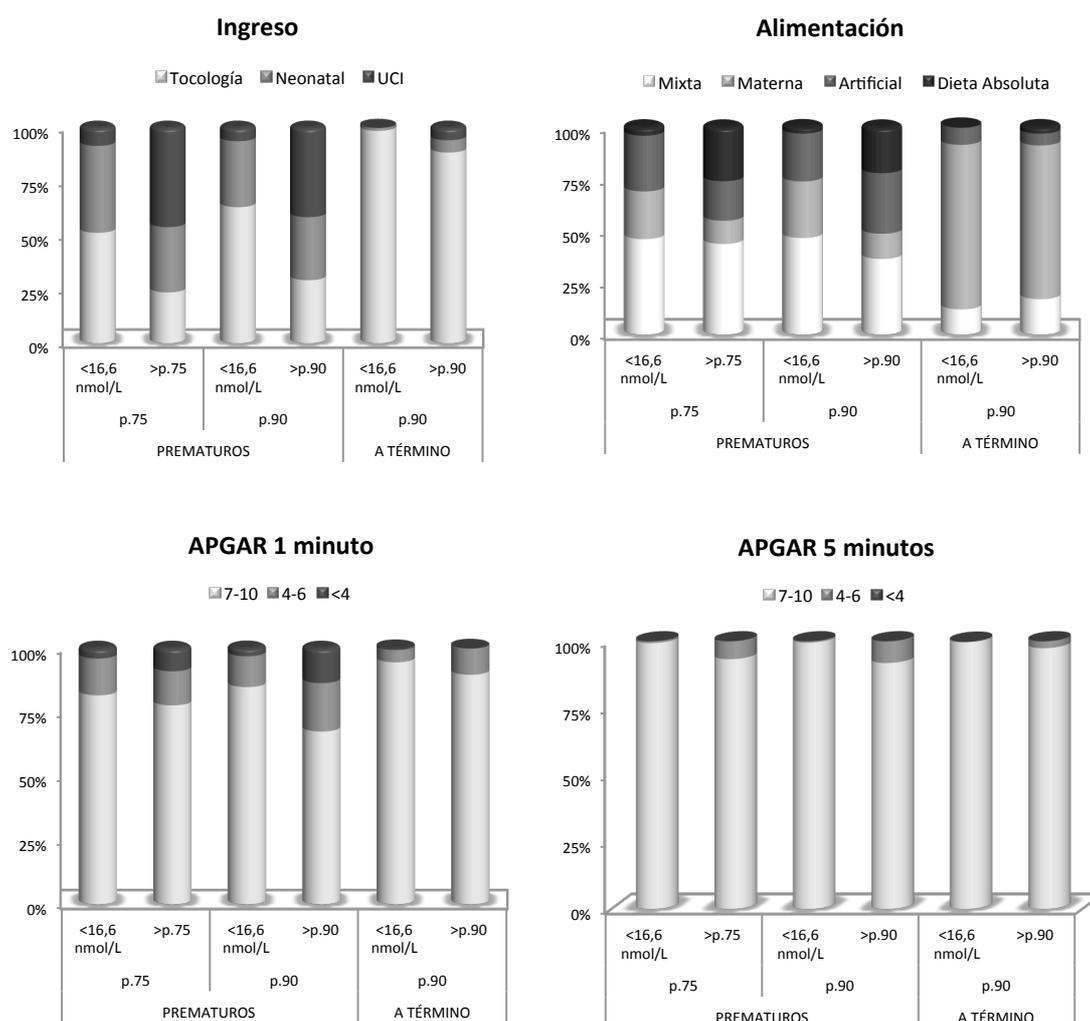
Según el tipo de ingreso se observaron diferencias estadísticamente significativas en los RN ingresados en la UCI y en maternidad, pero de forma diferente. Sólo en el caso de los ingresados en UCI era mayor la proporción de RN que tenían niveles elevados de 17OHP, mientras que en los RN ubicados en maternidad presentaban mayoritariamente niveles normales de 17OHP y, por lo tanto, sólo los que requerían ingreso en UCI mostraban niveles de 17OHP significativamente mayores.

Con el tipo de alimentación se observaron diferencias significativas para los RN con dieta absoluta y alimentación materna. Para el caso de dieta absoluta la mayor proporción de RN manifestaba niveles elevados de 17OHP, mientras que los RN con alimentación materna mayoritariamente tenían niveles normales. Por lo tanto, los RN que por su estado de salud mantienen dieta absoluta son los que presentaban niveles de 17OHP significativamente mayores.

Se observaron diferencias significativas para los RN con puntuación APGAR al minuto de vida en los grupos de puntuación menor a 4 y mayor a 7. En la puntuación APGAR a los 5 minutos se identificaron diferencias significativas en los grupos de puntuación entre 4 y 6 y en el grupo de puntuación mayor a 7. En la puntuación APGAR a 1 minuto cuando es menor a 4 se observan más RN con 17OHP más altos, lo mismo para APGAR a los 5 minutos en el grupo de puntuación entre 4 y 6, es decir, cuanto menor es la puntuación APGAR, mayor es la concentración de 17OHP.

En la **Figura 46** se representan las proporciones de estas variables.

Figura 46. Presencia de otros factores perinatales en función de los niveles de 17OHP.



Finalmente, en la **Tabla 79** se resumen los factores que resultaron influyentes en los niveles de 17OHP provocando un aumento en la concentración.

Tabla 79. Factores que provocan elevación de niveles de 17OHP.

FACTORES MATERNOS Y DEL PARTO
Patología del parto
Inseminación artificial
Líquido amniótico meconial
Incompetencia cervical
Parto prematuro con inicio espontáneo de trabajo de parto
Amenaza de parto prematuro
Macrosoma
FACTORES NEONATALES
Patología respiratoria
Patología digestiva
Patología cardíaca

Ictericia
 Anemia
 Encefalopatía
 Hemorragia cerebral
 Hipotensión arterial
 Sepsis

OTROS FACTORES PERINATALES

Multiparidad
 Medicación
 Trasfusión
 Ingreso en UCI
 Dieta absoluta
 Baja puntuación APGAR

3.10. ESTUDIO DEL EFECTO DEL TRATAMIENTO PRENATAL MATERNO CON CORTICOIDES EN LOS NIVELES DE 17OHP

Se analizó el efecto del tratamiento prenatal con corticoides en los niveles de 17OHP medidos en el cribado neonatal de HSC, ante la sospecha de que dicho tratamiento, dirigido a la reducción de la incidencia y gravedad del distress respiratorio en RN prematuros, puede afectar al eje HHS interfiriendo en los niveles de 17OHP.

Población de estudio

La población utilizada para esta parte del estudio fue de 257 RN prematuros (EG < 37 semanas), cuyas madres habían sufrido en algún momento del embarazo riesgo de parto prematuro. Se requería, además, que la prueba de cribado neonatal se hubiera realizado en el Hospital Universitario Miguel Servet y que el neonato hubiera nacido en este mismo centro para disponer así de la hoja de parto y el historial del RN y de la madre para recoger la información referente al tratamiento con corticoides que había recibido.

Tabla 80. Descriptivos de las variables cuantitativas de la población de estudio.

Variable	K-S (p)	n	Mediana	RIC
17OHP	0.000	257	11,8 nmol/L	8,52 – 23,10
EG	0.000	257	35,0 semanas	33,6 – 36,0
Días desde última dosis	0.000	107	10 días	2 - 26

Esta población se distribuía en función de la EG como se indica en la **Tabla 81**.

Tabla 81. Tamaño de la población de estudio en cada grupo de EG.

EG (semanas)	n
<31	33
31-33	27
33-35	69
35-36	80
36-37	48
>37	-
TOTAL	257

En la mayoría de las ocasiones se administra una dosis completa (dos viales de 12 mg de betametasona en un intervalo de 24h) pero hay otras en las que la dosis es inferior, únicamente se administra un vial de 12 mg de betametasona, y en cambio, otras en las que al cabo de unos días, si se repite el episodio de riesgo de parto prematuro, se administran más dosis de corticoides. En la **Tabla 82** figura el porcentaje de las diferentes dosis administradas.

Tabla 82. Dosis de corticoides y porcentajes.

	%	Nº de dosis	%
Sin tratamiento	58,4	0	58,4
		1/2	6,2
con tratamiento	41,6	1	31,9
		>1	3,5

Esta parte del trabajo se realizó sobre una población más pequeña que el resto, pero el efecto de la EG sobre los niveles de 17OHP es el mismo. Si se segmentaba la población total por grupos de EG el tamaño muestral de cada categoría no sería adecuado; por lo tanto, se tipificó la variable 17OHP según EG para un correcto manejo de los datos. Así, se pudieron comparar grupos de un tamaño adecuado para obtener conclusiones estadísticas correctas teniendo en cuenta al mismo tiempo la corrección según la EG.

Para la tipificación de la variable se utilizó la siguiente fórmula: $z = \frac{X - \bar{x}}{\sigma}$, siendo X el valor de 17OHP que se quiere tipificar, \bar{x} la media de 17OHP del grupo de EG al que pertenece y σ su desviación típica, por lo tanto se calculó, previamente, la media y desviación típica de la 17OHP para cada grupo de EG (**Tabla 83**).

Tabla 83. Media y desviación típica de 17OHP para cada grupo de EG.

EG (semanas)	17OHP	
	\bar{x}	σ
<31	71,89	39,98
31-33	26,98	18,36
33-35	17,22	12,84
35-36	12,46	12,37
36-37	10,26	4,6

Una vez tipificada la variable 17OHP se procedió a realizar el estudio estadístico.

Análisis de los niveles de 17OHP en función de si hay tratamiento prenatal con corticoides o no.

En primer lugar se estudió si el tratamiento con corticoides produce una disminución significativa de los niveles de 17OHP debida a la posible inhibición del eje HHS.

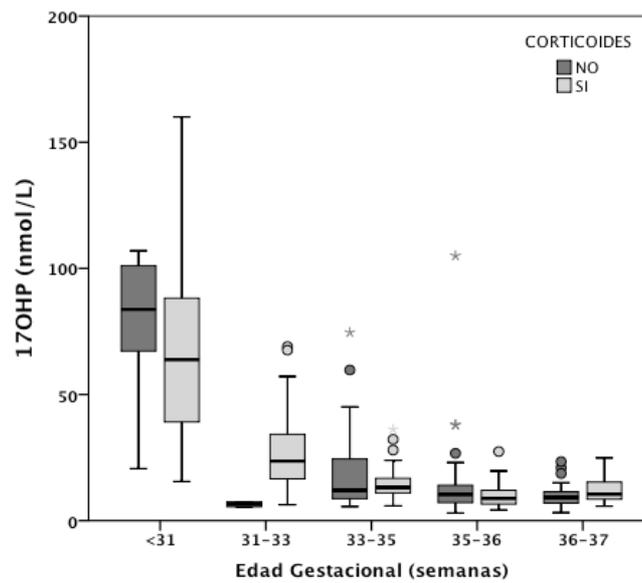
En la **Tabla 84** se indica el número de RN tratados y no tratados de forma prenatal para cada EG.

Tabla 84. Recuento de RN tratados y no tratados con corticoides prenatalmente.

EG (semanas)	n	
	Tratamiento con corticoides	
	No	Sí
<31	6	27
31-33	2	25
33-35	32	37
35-36	68	12
36-37	42	6
TOTAL	150	107

En la **Figura 47** se refleja la dispersión de los valores de 17OHP para cada grupo de EG.

Figura 47. Dispersión de niveles de 17OHP para RN tratados y no tratados en cada EG.



Como se dijo anteriormente, el estudio estadístico se realizó con la variable 17OHP tipificada. En la **Figura 48** se representa la dispersión de dicha variable en función de si existe tratamiento con corticoides o no.

Figura 48. Dispersión de niveles de 17OHP tipificada para RN tratados y no tratados.

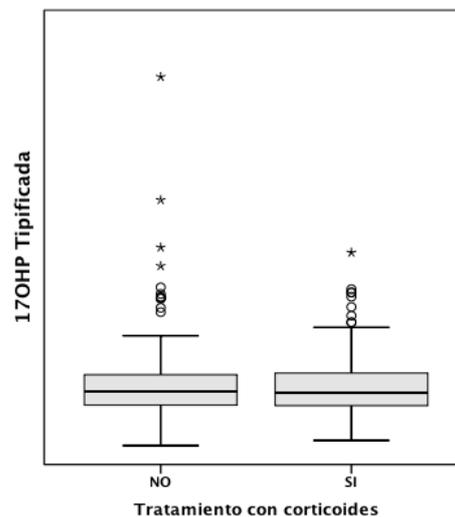


Tabla 85. Estudio estadístico de la influencia del tratamiento con corticoides en niveles de 17OHP.

	Tratamiento con corticoides	Mediana	RIC	M-W (p)
17OHP (nmol/L)	NO	10,30	7,41 – 14,50	-
	SI	18,30	11,00 – 38,00	
17OHP tipificada	NO	-0,21	-0,55 – 0,02	0,748
	SI	-0,24	-0,56 – 0,25	

Se compararon las distribuciones de la variable tipificada mediante el test U de Mann-Whitney. El test proporcionó una significación de 0,748, por lo tanto, se puede afirmar que no existen diferencias significativas en los niveles de 17OHP entre el grupo de RN tratados y no tratados antes del parto.

Si se revisan los resultados recogidos en la **Tabla 85**, los RN que habían sido sometidos a tratamiento tuvieron niveles de 17OHP ligeramente más elevados que los no tratados, aunque sin significación estadística, pese a la sospecha inicial de que el tratamiento prenatal con corticoides podría provocar la disminución de los niveles de 17OHP.

Análisis de los niveles de 17OHP en función del número de dosis de corticoides administradas.

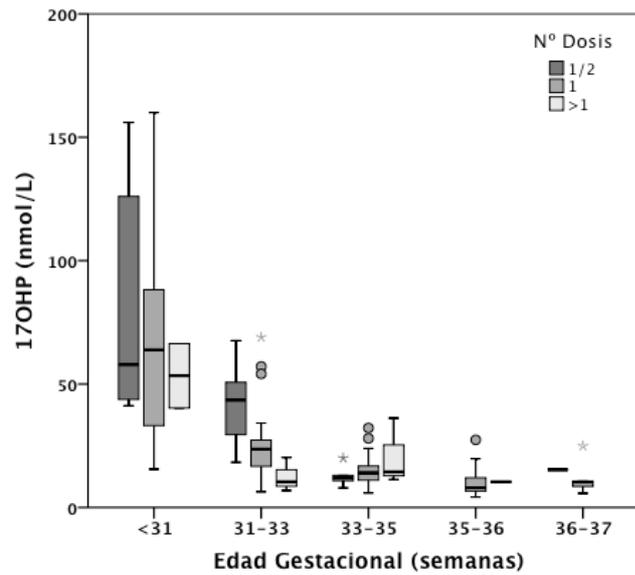
En este apartado se estudió cómo se comporta la concentración de 17OHP en función del número de dosis que se administraron. En la **Tabla 86** se indica la distribución de los RN según la dosis administrada y la EG.

Tabla 86. Recuento de RN en función del número de dosis administradas.

EG (semanas)	n		
	Dosis administradas		
	1/2	1	>1
<31	5	20	2
31-33	5	17	3
33-35	5	29	3
35-36	0	11	1
36-37	1	5	0
TOTAL	16	82	9

En la **Figura 49** se representa la dispersión de los valores de 17OHP para cada dosis.

Figura 49. Dispersión de niveles de 17OHP en función de la dosis de corticoides para cada EG.



En este caso el análisis estadístico también se realizó con la variable 17OHP tipificada. En la **Figura 50** se representa gráficamente la dispersión de los niveles de 17OHP tipificada en función de la dosis administrada y en la

Tabla 87 se resume el análisis estadístico.

Figura 50. Dispersión de niveles de 17OHP tipificada en función de la dosis de corticoides.

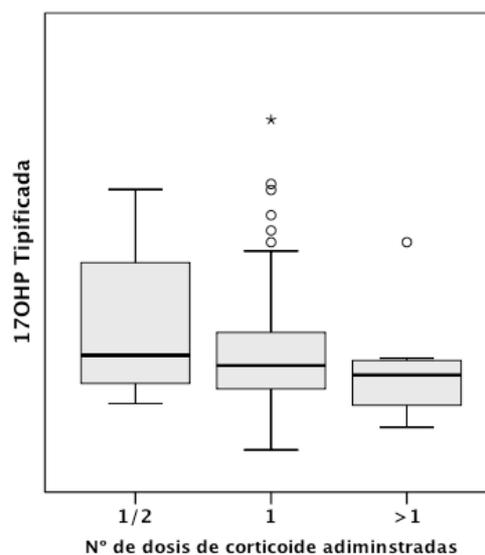


Tabla 87. Estudio estadístico de la influencia del número de dosis de corticoide en los niveles de 17OHP.

	Dosis administrada	17OHP (nmol/L)		K-W (p)
		Mediana	RIC	
17OHP (nmol/L)	1/2	35,35	14,15 – 54,30	-
	1	16,70	11,00 – 30,70	
	>1	14,40	10,40 – 36,20	
17OHP tipificada	1/2	-0,21	-0,55 – 0,20	0,347
	1	-0,10	-0,49 – 1,19	
	>1	-0,37	-0,79 – -0,17	

No hubo diferencias significativas dependiendo del número de dosis, ya que el test Kruskal-Wallis utilizado ofreció una significación de 0,347.

A pesar de no existir diferencias significativas en los niveles de 17OHP sí se observó una ligera disminución de 17OHP a medida que se administran más dosis de corticoides (

Tabla 87).

Días transcurridos desde la última dosis hasta el nacimiento

Se investigó si el tiempo transcurrido entre la administración de la última dosis de corticoides y el parto influye en los niveles de 17OHP. Se intentaba detectar si la betametasona tenía efecto sobre los niveles de 17OHP del RN al inhibir el eje HHS, cuando el parto se producía durante el periodo en el que el fármaco es activo (<7 días).

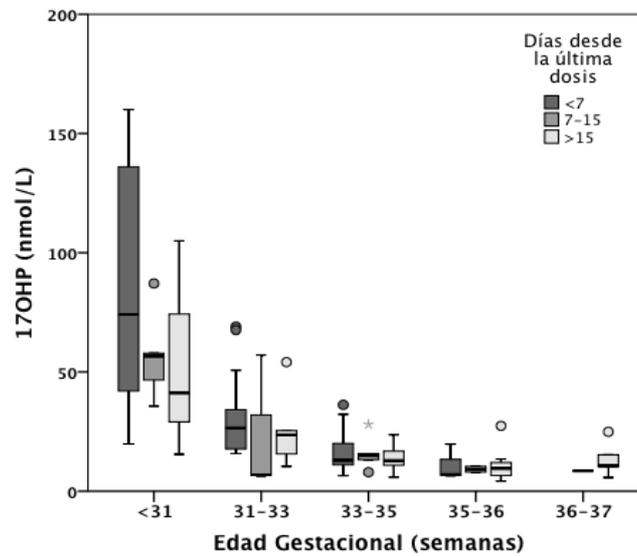
En la **Tabla 88** se indica la distribución de los RN según el tiempo transcurrido desde la última dosis de corticoide hasta el parto y la EG.

Tabla 88. Recuento de RN en función de los días transcurridos desde la última dosis hasta el nacimiento.

EG (semanas)	n		
	Días desde la última dosis		
	< 7	7 - 15	> 15
<31	13	5	9
31-33	17	3	5
33-35	14	5	18
35-36	3	2	7
36-37	0	1	5
TOTAL	47	16	44

En la **Figura 51** se representa la dispersión de los valores de 17OHP en función de los días transcurridos desde la última dosis hasta el parto.

Figura 51. Dispersión de niveles de 17OHP en función de los días desde la última dosis de corticoide hasta el parto para cada EG.



En la **Figura 52** se representa la dispersión de los niveles de 17OHP tipificada, que es la que se empleó para el estudio de diferencias significativas de los niveles de 17OHP en función de los días transcurridos desde la última dosis de corticoides hasta el parto.

En la **Tabla 89** se recogen los resultados obtenidos.

Figura 52. Dispersión de niveles de 17OHP tipificada en función de los días desde la última dosis de corticoide hasta el parto.

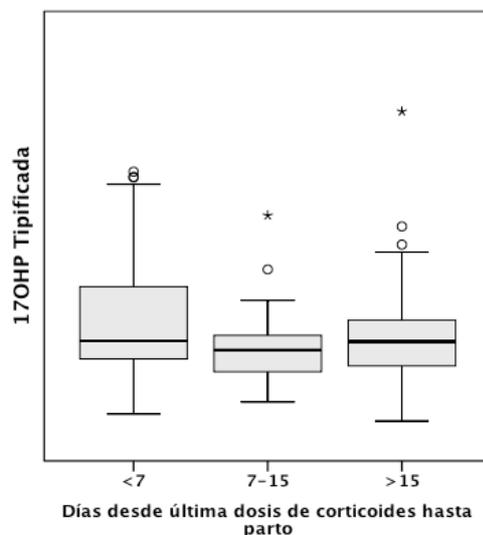


Tabla 89. Estudio estadístico de la influencia de los días transcurridos desde la última dosis de corticoide hasta el parto en los niveles de 17OHP.

Días transcurridos desde última dosis hasta el parto	17OHP (nmol/L)		K-W (p)
	Mediana	RIC	
<7	23,90	15,80 – 43,70	-
7 - 15	15,40	8,25 – 51,65	
> 15	15,10	10,50 – 25,15	
<7	-0,22	-0,49 – 0,59	0,314
7 - 15	-0,36	-0,68 – -0,14	
> 15	-0,23	-0,59 – 0,09	

Se aplicó el test estadístico de Kruskal-Wallis con un resultado de significación de 0,314, no detectándose diferencias significativas, por lo tanto el tiempo trascurrido entre última dosis y parto no influía en los niveles de 17OHP.

Aunque no existían diferencias significativas en los niveles de 17OHP se observó una ligera tendencia de disminución de los niveles de 17OHP a medida que se aleja en el tiempo el momento de instauración del corticoide (**Tabla 89**).

Todo el estudio respecto a la utilización de corticoides antes del parto para alcanzar una maduración pulmonar del feto ante una amenaza de parto prematuro va en la misma línea, los niveles de 17OHP cuantificados en la prueba de cribado neonatal

fueron independientes del tratamiento con corticoides, tanto de la dosis como del tiempo transcurrido hasta el parto.

4. DISCUSIÓN

Este trabajo presenta la experiencia en el cribado neonatal de HSC en el Hospital Universitario Miguel Servet.

4.1. METODOLOGÍA DEL ESTUDIO

Cabe destacar que el presente estudio es el que ha analizado de forma más exhaustiva un programa de cribado neonatal dirigido a la detección de HSC clásica debida a déficit de 21OH, tanto a la hora de ajustar los puntos de corte para optimizar la rentabilidad del programa, como al analizar numerosos factores perinatales que pueden afectar a los niveles de 17OHP cuantificados en el cribado neonatal de HSC, aplicando para ello un minucioso análisis estadístico.

Los resultados a los que se han llegado en este estudio han sido muy clarificadores en cuanto a varias controversias que existen en la literatura acerca de los programas de cribado neonatal de HSC, gracias a la meticulosa metodología empleada y a pesar de las limitaciones que existieron a lo largo del estudio.

Una de estas limitaciones se debe a que el nacimiento y seguimiento de los RN se realiza en varios centros. Este hecho ha ocasionado que para algún apartado del estudio sólo se pudo utilizar la población nacida en el Hospital Miguel Servet ya que es para la que se disponía de acceso a todos los datos requeridos. Por otro lado, es posible que alguna forma no clásica que se haya podido detectar clínicamente en otros centros no esté registrado en este estudio. No ocurre lo mismo con las formas clásicas de HSC, ya que sólo existen dos centros clínicos de referencia con los que hay una comunicación fluida sobre los casos positivos.

Por otro lado, la principal variable del estudio, 17OHP de cribado neonatal, presentó una distribución no gaussiana que no aceptó ninguna transformación matemática que posibilitara su normalización, por lo tanto, se tuvo que optar por su categorización asumiendo que la categorización de una variable cuantitativa supone siempre una pérdida de información. Por este motivo, la categorización de la 17OHP se realizó cuidadosamente definiendo subgrupos en los que la variable 17OHP era uniforme.

El resto de las variables cuantitativas tampoco seguían una distribución normal, lo que obligó a emplear test estadísticos no paramétricos que tienen menos potencia estadística.

Finalmente, al tratarse de un estudio retrospectivo, presenta las limitaciones intrínsecas a este tipo de estudios, la evidencia puede ser menos fuerte debido a que están sujetos a la calidad de la información que se haya recogido y que no depende del investigador. Es más probable la aparición de sesgos debidos a la dificultad de recogida y calidad de la información. El objetivo con el que se recogieron los datos en un principio no tiene nada que ver con el estudio que se ha realizado, por lo tanto existen lagunas de información. Por ejemplo, la variable EG en un principio no se registraba para todos los casos y esto provocó la pérdida de muchos datos para el estudio de los primeros años, aun así, al disponer de una población muy grande los resultados obtenidos son perfectamente extrapolables. El hecho de tratarse de un estudio retrospectivo fue más problemático cuando se analizaron los factores perinatales que podían afectar a los niveles de 17OHP. Para disponer de la máxima información posible se recogieron variables muy dispares que posteriormente se clasificaron en grupos más generales. Al ser conscientes de estos problemas, las variables y los datos se trataron cuidadosamente para no añadir más sesgos en el proceso de análisis estadístico.

4.2. INCIDENCIA

La incidencia publicada por distintos autores es variable, dependiendo principalmente del área geográfica como se pudo ver en la **Tabla 6**. Se estima que la incidencia mundial de la enfermedad está en 1:15000 RN vivos²¹² Existen zonas con una incidencia muy elevada como en Tailandia⁶⁵ con 1:5771 y otras con una incidencia muy baja como en Colorado (EE.UU.) o Grecia con 1:24766 y 1:22500, respectivamente^{57,67}. Resulta además muy llamativa la incidencia de HSC en la población Yupik de Alaska que es de 1:282 RN vivos⁵⁵.

La incidencia de HSC clásica que presenta la población analizada en este estudio (1:17199) está dentro de las incidencias habituales publicadas en todo el mundo y en consonancia con la publicada para España por la Sociedad Española de Cribado Neonatal

(AECNE)⁵⁴ de 1:16 441, aunque menor a la descrita para población mediterránea⁷¹ (1:10.870).

Mediante el cribado neonatal de HSC también se han diagnosticado en nuestra población formas no clásicas de HSC debidas a déficit de 21OH y una debida a déficit de 3βHSD debido a la conversión de 17-hidroxipregnenolona a 17OHP por actividad enzimática extraadrenal²¹³. Estas formas de HSC también han sido detectadas en otros programas de cribado^{61,214}.

Para el cálculo de la incidencia y la discusión que continúa, se consideran sólo los casos de HSC clásica debida a déficit de 21OH. No se tienen en cuenta ni las formas no clásicas ni otros déficits enzimáticos detectados también mediante el cribado de HSC.

En general, los diferentes programas de cribado neonatal^{67-69,71} señalaron que se detectan más casos de HSC clásica debida a déficit de 21OH mediante el cribado neonatal que con la clínica y que, todos los casos diagnosticados clínicamente al nacimiento habrían sido detectados también mediante el cribado. Esto ha de ser considerado como un motivo para la incorporación del cribado de HSC en los programas de cribado neonatal.

Existen estudios en los que se compararon incidencia y morbilidad de HSC en dos poblaciones, una en la que se realizaba cribado neonatal y otra en la que no. Uno de estos estudios es el de Brosnan *et al.*²¹², donde compararon dos poblaciones contemporáneas en regiones diferentes, una población no cribada de Arkansas y Oklahoma con otra población cribada de Texas. En este trabajo se afirmó que la incidencia en la cohorte cribada es ligeramente superior, 6,26 casos por cada 100000 RN frente al 5,75 de casos en la cohorte no cribada (1:15974 vs 1:17361). Balsamo *et al.*²¹⁵ estudiaron en la región Emilia-Romana dos cohortes consecutivas en el tiempo, una cribada y otra sin cribar. La diferencia en la incidencia de la enfermedad resultó ser muy importante, presentando la cohorte no cribada una incidencia de HSC de 1:25462 frente a una incidencia de 1:15518 en la población cribada. Las diferencias en la incidencia, aunque evidentes, no resultaron significativas. Lo mismo afirmaron Thilen *et al.*^{216,217} mediante dos estudios en la población de Suiza, uno sobre la población diagnosticada de HSC clínicamente y otra mediante cribado, a pesar de no encontrar diferencias significativas en cuanto a

incidencia de HSC, sí observaron una mayor incidencia de complicaciones de salud en la población no cribada.

La no existencia de diferencias significativas entre las incidencias de poblaciones cribadas y no cribadas puede deberse al mejor acceso a la sanidad en todo el mundo y a un mayor conocimiento de la enfermedad. La forma clásica de HSC ofrece síntomas y signos clínicos que permiten un rápido diagnóstico, siempre y cuando se conozca bien la enfermedad. La forma que cursa con pérdida salina, en función de su severidad, se presenta con un cuadro de vómitos y fallo de medro, y progresivamente se va instaurando un cuadro de insuficiencia suprarrenal aguda. Esta evolución permite al médico realizar una sospecha diagnóstica. Las formas severas también cursan con virilización de los genitales externos femeninos y esta observación puede motivar un diagnóstico precoz²¹². Así, se explicaría la gran diferencia que existe entre la población no cribada y cribada en Sapporo, Japón²¹⁸. En esta publicación apuntaron que la incidencia de HSC antes de 1981, diagnosticada clínicamente, fue de 1:43764; una vez que se incorpora el cribado neonatal de la enfermedad en 1994 la incidencia aumentó hasta 1:18 877 después de cribar 4 millones de RN, la gran diferencia que se observa en este caso se debería a que existe una década de diferencia entre ambos datos y en ese periodo de tiempo el conocimiento sobre la enfermedad evolucionó enormemente.

Otra explicación a que no existan diferencias significativas en la incidencia de la HSC entre población cribada y no cribada radica en que al tratarse de una enfermedad rara con una incidencia muy baja, el poder estadístico de los test empleados disminuye considerablemente con lo que podrían no detectarse diferencias significativas²¹².

Un importante debate que existe con el cribado neonatal de HSC es el hecho de que en muchos casos la manifestación clínica, que puede ser muy precoz, aparezca antes de tener los resultados del cribado neonatal. En la experiencia que presenta este trabajo sólo 3 de los 8 casos diagnosticados se detectaron antes de los resultados del cribado, todos ellos mujeres.

Entre las niñas que se diagnosticaron clínicamente, una de ellas fue incluso en periodo prenatal al tratarse de la hermana de un niño afecto detectado mediante el programa de cribado años antes. Los otros dos casos corresponden a niñas que nacieron

con virilización genital. No obstante, estos casos que se diagnosticaron clínicamente también presentaron cribado neonatal para HSC positivo. Cuando se informó del resultado positivo las niñas ya estaban ingresadas en la unidad de neonatología y se había iniciado el proceso de diagnóstico diferencial. En estos tres casos el cribado neonatal no aportó ningún beneficio diagnóstico, ya que se habrían diagnosticado igual de precozmente sin la ayuda del cribado.

Por lo tanto, sólo el 25% de los RN tuvieron manifestaciones clínicas antes de los resultados del cribado, este dato es incluso mejor que el que señalaron Grunieiro-Papendieck *et al.*⁶⁸ en su publicación donde informaron que sólo el 33% de los niños (20% de los varones y el 50% de las mujeres) con HSC tuvieron sospecha clínica de la enfermedad antes que el cribado o Cavarzere⁷¹ que apuntó en su publicación que 5 de los 6 RN afectados (3 niños y 3 niñas) fueron diagnosticados tras el cribado (16,7% se diagnosticaron clínicamente, una mujer). En el presente estudio se han diagnosticado por medio del cribado el 63% de los casos, resultado incluso mejor que en otras regiones, como Texas, dónde se diagnosticó por cribado el 56% de los casos²¹², o en Nueva Zelanda el 48%²¹⁹, considerando todos estos resultados como favorables. No obstante, es importante destacar que en nuestra serie el 100% de los varones fueron diagnosticados a través del cribado.

La HSC es una enfermedad autosómica recesiva, por lo tanto, debería afectar de igual forma tanto a varones como a mujeres. Sin embargo, debido a las diferencias de presentación clínica existen diferencias diagnósticas, y así, en muchas publicaciones se informa de un ratio no equitativo de pacientes según el sexo, existiendo más mujeres afectas que varones. Esta diferencia era más acusada antiguamente cuando no se realizaba el cribado neonatal de HSC, o en aquellas zonas donde aún no está implantado. Los varones no presentan alteraciones genitales al nacimiento y, por lo tanto, poseen mayor riesgo de presentar crisis de pérdida salina, lo que puede conducir al fallecimiento del RN si no se realiza un diagnóstico previo. En cambio, las niñas al presentar genitales ambiguos al nacimiento son más fáciles de diagnosticar. Así, la existencia de un mayor porcentaje de niñas afectas con respecto a los niños, es una prueba indirecta de muertes de varones debidas a crisis de pérdida salina sin identificar⁵⁵.

Lo anteriormente expuesto queda de manifiesto en varios estudios como el de Brosnan *et al.*²¹² dónde observaron diferencias en cuanto a la proporción de RN varones diagnosticados con forma de pérdida salina, que en la población no cribada es 0,73 veces menor por 100000 RN. Asimismo, Balsamo *et al.*²¹⁵ al comparar la población cribada con la no cribada, observaron que la relación varón/mujer al diagnóstico aumentó con el cribado. En otro estudio retrospectivo de casos²²⁰ se determinó que el 63% de los casos diagnosticados en áreas geográficas sin cribado eran niñas. Heather *et al.*²¹⁹ sacaron conclusiones similares es el estudio en el que evaluaron la eficacia del programa de cribado de HSC en Nueva Zelanda entre los años 1994 y 2013 e informaron que el 96% de los RN diagnosticados sin cribado son niñas frente al 29% que se detectan mediante el cribado. En Suiza²¹⁷ se obtuvieron diferencias en cuanto al sexo en los casos diagnosticados, pero esta diferencia se limitó a las formas de virilización simple. Por otra parte, Hird *et al.*²²¹ no apoyaron la hipótesis de que, en su población sin cribado, los varones con pérdida salina morían antes de ser diagnosticados. No obstante, los neonatos varones detectados por el cribado mostraron una hiponatremia más leve que los detectados por la clínica ya que todos los neonatos del grupo control con pérdida salina debutaron con hiponatremia. Esta observación es muy importante a tener en cuenta ya que el impacto del cribado sobre la morbimortalidad es un componente fundamental en los criterios para evaluar la validez y adaptabilidad de un cribado. Como limitaciones, el estudio de Hird²²¹ no sugirió que la ausencia de cribado conlleve un incremento de la mortalidad por HSC.

Muchos de los trabajos ya citados también discutieron acerca de otro problema que se pone de manifiesto cuando no existe cribado neonatal de HSC, que es la gran diferencia de edad al diagnóstico entre niños y niñas. Shetty *et al.*²²⁰ vieron que en una población sin cribado de HSC, las niñas se diagnosticaron a los $8,9 \pm 2,5$ días, frente a los $23,4 \pm 9,8$ días para las niños, siendo además la primera manifestación clínica en el 72,7% de los niños una crisis adrenal con todos los peligros que conlleva. Este gran retraso en el diagnóstico y el peligro de presentar una crisis de insuficiencia suprarrenal se evita con el cribado neonatal de la enfermedad. Así, Brosnan *et al.*²¹² vieron que la edad al diagnóstico para los varones de la población no cribada fue de 26 días frente a la cribada que fue de 12 días. Por lo tanto, queda claro el beneficio para los varones que de forma

significativa ($p=0,01$) tuvieron un diagnóstico más temprano con el cribado, reduciendo además la morbilidad y los tiempos de hospitalización.

Heather *et al.*²¹⁹, en su estudio sobre el programa de cribado de HSC, en Nueva Zelanda, detectaron que el diagnóstico también es más rápido en la cohorte cribada (4,8 vs 8,5 días) y existen diferencias significativas en las concentraciones de sodio y potasio, presentando niveles menos extremos en la población cribada. Se refleja el mismo problema en los Países Bajos²²², donde no existen diferencias en cuanto a sexo pero sí en cuanto a la edad a la que se inicia el tratamiento. En la región en la que existe cribado para HSC el tratamiento comienza en el día 7 (1-31); en cambio, en la zona en la que no existe cribado para HSC, éste comienza en el día 14 (0-115) desde el nacimiento.

En nuestro estudio queda patente este beneficio del cribado neonatal de HSC ya que la relación de los RN detectados es de 5 varones frente a 3 mujeres. El mayor porcentaje de varones detectados (63%) pone de manifiesto la eficacia del cribado y el hecho de que ningún varón ha fallecido sin ser diagnosticado.

La edad de diagnóstico y, por consiguiente, el inicio del tratamiento, de los varones afectados ha sido muy precoz, 8 días (6 – 10), evitando cualquier posible manifestación de pérdida salina e insuficiencia suprarrenal que pudiese comprometer el estado de salud del RN. Además de ser datos comparables con los publicados para otras poblaciones cribadas, como se ha ido viendo a lo largo de esta Discusión, tampoco se alejan mucho de los tiempos de diagnóstico e inicio de tratamiento de las mujeres de nuestra serie, 3 días (0 - 4), a pesar de que el diagnóstico de dos de ellas se hizo clínicamente antes de los resultados del cribado, y que para la tercera fue incluso en el periodo prenatal.

4.3. OPTIMIZACIÓN DEL PROGRAMA DE CRIBADO NEONATAL DE HSC

Uno de los grandes problemas en el cribado neonatal de la HSC es el elevado número de FP. Este elevado porcentaje de FP supone un gran gasto económico, se estima que el coste para el laboratorio de cada FP en un programa de cribado neonatal, en cuanto a muestras duplicadas, repeticiones internas, etc., es 10 veces superior al coste de una muestra normal, y si se añade el coste que supone el seguimiento clínico de estos

niños, el gasto económico aumenta drásticamente²¹³. A esto se añade el gran coste emocional en las familias de los RN al estar ante la incertidumbre de si su hijo padece o no una grave enfermedad.

La definición de puntos de corte óptimos de la 17OHP para obtener la mejor relación sensibilidad-especificidad disminuyendo la tasa de FP en el cribado neonatal ha sido objetivo de muchos estudios. Entre los distintos programas de cribado para HSC existen muchas diferencias en cuanto a método de cuantificación, edad del RN a la toma de muestra, grupos de peso o EG definidos o anticuerpos empleados en el análisis; por lo tanto, se recomienda que los puntos de corte se establezcan para cada programa de cribado de forma específica, teniendo en cuenta sus características particulares. El resultado ha sido una gran variabilidad de valores y criterios entre los distintos programas de cribado neonatal de HSC.

En ninguno de estos trabajos el establecimiento de los puntos de corte acordes con la población a cribar fue tan exhaustivo como en el presente estudio, ya que se han definido exactamente los grupos tanto de EG como de peso entre los que existen diferencias significativas para la concentración de 17OHP. En los demás estudios estos grupos se definen de manera menos rigurosa. A su vez, es importante destacar que se han valorado muchos factores que pueden alterar la concentración de 17OHP.

Como se viene diciendo a lo largo de todo el trabajo, los niveles de 17OHP son muy superiores en los RN prematuros. Esta observación ha hecho que la mayoría de los programas de cribado neonatal segmenten los puntos de corte de 17OHP en función del peso o de la EG del RN para mejorar la sensibilidad y especificidad. Hay regiones como en Japón o en Europa donde los puntos de corte se basan en EG y, otros países, como en EE.UU., que se basan en peso⁵⁵.

En este trabajo se realizó una comparativa entre segmentación de 17OHP por peso o EG ya que mediante un estudio de correlación se comprobó que ambas variables no eran completamente equivalentes, por lo que resultaba necesario determinar cuál de ellas permitía una mejor definición de puntos de corte de 17OHP y optimizar así la rentabilidad del programa. Se analizó el caso hipotético de emplear EG o peso en una misma población. La eficacia diagnóstica, en base a sensibilidad, especificidad, VPP, VPN,

que se obtiene utilizando la EG es mucho mayor que para el peso. Las diferencias más importantes se dieron en VPP (1,07 vs 0,67), especificidad (99,04% vs 98,98%) y especialmente en la sensibilidad (100% vs 66,67%), debido a que uno de los RN afectos de HSC no habría sido diagnosticado mediante el cribado si se hubiese tomado como criterio de segmentación el peso. De los resultados obtenidos en este estudio (**Tabla 40**) se decide utilizar la EG como factor de segmentación de los niveles de 17OHP.

La mayoría de los autores están de acuerdo con esta observación, y en la mayoría de las ocasiones en las que se utiliza el peso como criterio de segmentación es porque no disponen de la EG al nacimiento como ocurre en Argentina⁶⁸, dónde emplean el peso porque la información que tienen de esta variable es más fiable, a pesar de haber realizado un estudio de correlación y obtener mejores resultados para la EG. En los Países Bajos²²², antes de 1999 se utilizaba el peso, a partir de ese momento se cambió a la EG como criterio para definir los puntos de corte y este cambio produjo una gran reducción en la tasa de FP pasando del 0,24% al 0,07%.

Algunos estudios intentaron definir puntos de corte integrando ambas variables, peso y EG. Este es el caso del trabajo publicado por Lee *et al.*²²³, quienes encontraron que la EG correlaciona mejor con los niveles de 17OHP que con el peso, pero definieron un parámetro que mide la prematuridad del RN en base al peso y la EG en conjunto. Dividieron los RN en función de este nuevo parámetro en tres grupos: prematuros+bajo peso, prematuros+peso normal y a término+bajo peso. Con este factor de prematuridad recalcularon los niveles de 17OHP de los RN y aplicaron un único punto de corte.

Al hilo de este estudio, en nuestro trabajo se realizó una investigación que apoya la decisión de definir los puntos de corte sólo en función de la EG, es el análisis del comportamiento de los niveles de 17OHP en los RN PEG (Apartado 19.3). Se trata de una manera de evaluar en conjunto la variación de 17OHP con el peso y la EG. El feto se desarrolla y crece en el interior del útero dentro de unos parámetros que van en concordancia con las semanas de gestación. Ciertas enfermedades maternas, problemas del feto o causas medioambientales pueden provocar que los neonatos tengan un peso por debajo de los percentiles normales para su EG, lo que da lugar a mayores

complicaciones perinatales. Este grupo de RN se denomina PEG. Se caracterizan por presentar peso por debajo del percentil 10 para su EG al nacimiento.

En este contexto es importante diferenciar entre dos conceptos que en la literatura en ocasiones aparecen como sinónimos, pero en realidad son dos entidades claramente distintas: pequeño para la edad gestacional (PEG) y crecimiento intrauterino retardado (CIR). En la bibliografía actual se cataloga a un RN con CIR cuando no ha alcanzado su potencial de desarrollo genético dentro del útero. Por otro lado se suele calificar a un RN como PEG a aquel que no ha podido llegar a un umbral antropométrico específico a una EG determinada. De ahí se deduce que el concepto de PEG es estadístico, no describe un tipo de crecimiento normal o patológico, sino un resultado del peso/longitud al final de la gestación. Se trata de un concepto estático, un dato transversal y de carácter estadístico. En cambio, CIR es un concepto dinámico, longitudinal, que engloba a todo proceso capaz de limitar o restringir, en la fase intrauterina, el potencial de crecimiento intrínseco del feto. Es importante indicar que todos los CIR van a estar incluidos en el grupo de RN PE. En este estudio se analiza el conjunto completo de PEG.

Dado que los RN PEG son un grupo con características de desarrollo especiales, se realizó un estudio más detallado de los niveles de 17OHP en estos RN. Se demostró que utilizando la EG para definir los puntos de corte de 17OHP no existen diferencias significativas entre RN PEG y no PEG, por lo tanto, se elimina el sesgo producido por el peso, no siendo necesario tener en cuenta esta variable si los niveles de 17OHP se evalúan en función de la EG.

Otro estudio que está de acuerdo con esta observación es el elaborado por van der Kamp *et al.*²⁰² en el que ,utilizando otra metodología, un estudio de regresión, demostraron que se obtiene mayor sensibilidad si se utiliza la EG para definir los puntos de corte de 17OHP. Determina que el peso explica el 31% de la variabilidad de la 17OHP, mientras que la EG explica el 50,1%. Si se combinan ambas variables aumenta muy poco la bondad de ajuste de la regresión, tan sólo al 50,2%. Una explicación de que la EG es un predictor más poderoso que el peso para la 17OHP es que la EG está más íntimamente

asociada con el desarrollo de las glándulas adrenales del feto que el peso²²⁴, al igual que la mortalidad neonatal está más relacionada con la EG que con el peso del neonato.

También Francia intentó adecuar los puntos de corte a la EG y el peso⁶¹ calculando modelos de regresión lineal para los niveles de 17OHP, la EG representó el 9,5% de la varianza y el peso el 7,4%, corroborando una vez más la mayor influencia de la EG sobre los niveles de 17OHP.

El punto de corte que se emplea en este trabajo es el percentil 99 al igual que en la mayoría de los programas consultados^{55,68,71} y el utilizado para los marcadores de los programas de cribado de otras enfermedades. Hay regiones en las que se emplea como punto de corte el percentil 97^{218,222} o incluso, el percentil 95²⁰⁷; pero en estos las tasas de FP son superiores.

En nuestro trabajo también se han analizado otras variables que se podrían tener en cuenta a la hora de definir los puntos de corte, como son el sexo y edad a la extracción, pero resultaron no ser influyentes en los niveles de 17OHP.

Varness *et al.*⁷² afirmaron que los niveles de 17OHP son significativamente más bajos en las mujeres que en los varones y que la mayoría de los FN que se dan en el cribado neonatal de HSC son niñas. Pero estos resultados no han sido corroborados por ningún otro autor^{223,225}, ni tampoco por el presente trabajo donde no se han encontrado diferencias significativas en función del sexo, por lo que no es necesario definir los puntos de corte de 17OHP en función de esta variable.

Existen estudios como el de Olgemöller *et al.*²¹³ en el que estos autores detectaron que los niveles de 17OHP disminuían con la edad a la extracción y que esta disminución era más rápida en los RN prematuros con peso <1000g, aunque no existían diferencias significativas entre todos los grupos de edad establecidos. Un estudio similar, pero centrado sólo en RN prematuros con EG < 32 semanas, es el realizado por Slaughter *et al.*²²⁶ en el que llegaron a una conclusión en la misma línea; una vez ajustados los niveles de 17OHP por peso observaron que la tasa de FP es superior en las muestras extraídas antes de las 48 horas de vida, por lo que recomendaron retrasar a las 48 horas de vida la extracción de la muestra.

Como ya se ha mencionado, en este estudio no se encontraron diferencias significativas en los niveles de 17OHP en función de la edad a la extracción, aunque es verdad que el protocolo de cribado de este centro es muy exigente en cuanto a la edad a la extracción de la muestra de sangre que debe realizarse entre las primeras 48 y 72 horas de vida; por lo tanto, los datos para edades fuera de este rango son escasos como se puede ver en la **Tabla 44**. No obstante, en el programa de cribado de la comunidad de Aragón, debido al estado de salud tan comprometido que tienen los RN extremadamente prematuros y a la inestabilidad fisiológica que presentan en los primeros días de vida, se ha implantado en el protocolo de cribado que a los niños que nacen antes de las 33 semanas de gestación se les realice la prueba de cribado entre las 48 y 72 horas de vida y que se repita la determinación de todos los analitos a los 15 días de vida de forma sistemática.

Con todo lo analizado hasta este momento se puede afirmar que la utilización de la EG como único factor de confusión para explicar el comportamiento de los niveles de 17OHP es suficiente, lo que facilita enormemente la interpretación de los resultados del cribado de HSC en el trabajo diario.

Una opción adicional para mejorar el VPP sin perder sensibilidad es mediante la repetición de la prueba en aquellos casos que presentan concentraciones de 17OHP próximas al punto de corte, ya que con la edad, los niveles de 17OHP de los RN sanos disminuyen mientras que en los afectados de HSC aumentan⁵⁵. Esta es la opción que se ha elegido para el programa de cribado neonatal de esta comunidad, junto con la correcta optimización de los puntos de corte de la 17OHP en función de la EG.

Hay otras alternativas para mejorar el VPP, como la empleada en Suecia, que consiste en la extracción previa de la 17OHP mediante éter para evitar las reacciones cruzadas del ensayo utilizado, pero esta opción no dio los resultados esperados ya que aumentó considerablemente el tiempo de análisis sin ganar la sensibilidad esperada y por este motivo desecharon este procedimiento²²⁷.

En Sapporo, Japón²¹⁸, aquellos casos en los que los niveles de 17OHP están por encima del punto de corte se someten a una segunda cuantificación de 17OHP mediante HPLC, evitando así la reactividad cruzada con otras especies, pero se afirma que a pesar

del empleo de esta prueba de segundo nivel, la tasa de FP en prematuros aumenta respecto a su experiencia anterior, en el caso de los RN a término sí disminuye (2,60% vs 5,38% para prematuros y 0,10% vs 0,06% para RN a término).

En Minesota consiguieron disminuir la tasa de FP con el protocolo que tienen establecido para los RN con un peso menor de 1800g. En estos casos realizan 3 extracciones consecutivas, la primera a la misma edad que el resto de los RN, entre el segundo y tercer día, y las otras a la semana y a las 2 semanas de vida, respectivamente. De esta manera se evitan los FP que corresponden a esta población de prematuros extremos²²⁸. Emplean además otro procedimiento que ha proporcionado grandes resultados tanto en Europa como en EEUU^{62,229} cuantificando otros esteroides (17OHP, androstendiona y cortisol) sobre la misma muestra de cribado. También realizan una segunda extracción de muestra a todos los RN con EG < 32 semanas en Argentina⁶⁸.

Otra herramienta diagnóstica para mejorar el rendimiento del programa es el estudio del gen CYP21A2 en los casos de cribado positivo. Se han desarrollado metodologías para realizar el análisis genético molecular de este gen directamente sobre la muestra de sangre del cribado²³⁰.

Uno de los grandes beneficios de estas pruebas de segundo nivel, además de aumentar la eficacia del programa de cribado aumentando la especificidad y el VPP sin sacrificar sensibilidad, es el hecho de evitar un gran estrés a las familias del RN al verse en la obligación de realizar múltiples pruebas al RN para la confirmación diagnóstica.

En esta comunidad no es posible el desarrollo de estas pruebas de segundo nivel dadas las limitaciones tecnológicas del centro. Esta sería una línea para continuar con la optimización del programa de cribado neonatal para HSC en el futuro.

La última modificación del programa de cribado neonatal de HSC en nuestra comunidad dirigida a mejorar su eficacia se realizó en 2008. El ensayo que se utilizaba para la cuantificación de la 17OHP desde el inicio del programa en 2003 hasta octubre del 2008 en este centro, el Hospital Universitario Miguel Servet, presentaba baja especificidad del anticuerpo y una elevada reactividad cruzada con otras hormonas presentes en la sangre del neonato como esteroides sulfato y glucurónidos. Esta es otra causa que eleva la tasa de FP en el programa de cribado para HSC. Para mejorar la

especificidad de la reacción y disminuir interferencias por reacciones cruzadas, la casa comercial que distribuye los reactivos modificó el anticuerpo que interviene en la reacción de cuantificación. Este reactivo es el que se está utilizando desde octubre de 2008. Esta modificación provocó una serie de cambios en cuanto a las concentraciones calculadas para 17OHP, lo que obligó a realizar un estudio de correlación y un cambio en los puntos de corte, dado que los niveles de 17OHP de las muestras de sangre de RN no se encuentran en el mismo rango que las obtenidas con el antiguo anticuerpo. Gracias a que la correlación entre las medidas realizadas con los dos anticuerpos fue óptima y ambos anticuerpos resultaron ser analíticamente equivalentes, se pudo realizar una transferibilidad de los puntos de corte de manera sencilla con la transformación de los resultados mediante la recta de regresión que relaciona las medidas entre los dos anticuerpos.

En el momento en que hubo una población suficientemente grande analizada con el nuevo anticuerpo de reacción se calcularon de nuevo los puntos de corte óptimos empleando la misma metodología que con el antiguo anticuerpo, es decir, segmentando los valores de 17OHP en función de los grupos de EG definidos y aplicando el percentil 99 de cada grupo como punto de corte.

4.4. EFICACIA DIAGNÓSTICA DEL PROGRAMA DE CRIBADO NEONATAL DE HSC

La fiabilidad de cada programa se basa en la evaluación de FP, FN, especificidad y sensibilidad. En la siguiente tabla se presenta lo publicado por otros autores al respecto.

Tabla 90. Sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

Autor, referencia, año	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	FP (%)	FN (%)	VPP (%)	VPN (%)
Presente estudio, 2015	100	99,2	0,8	0	0,6	100
Gidlöf ²²⁷ , 2014	84,3	99,9			13,4	100
Pezzuti ²³¹ , 2014	100	99,7	0,31		2,1	
González ⁵⁹ , 2013	98,26	-			0,36	
Chan ⁵⁷ , 2013	71,8	99			3,7	99,99
Coulm ⁶¹ , 2012	93,5	99,7	0,25	0,0004	2,3	99,9
Sarafoglou ²³² , 2012	84,6	99,94	0,057	15,4	9,5	-
Tajima ⁶³ , 2012	100	-	-	-	1,8	-
Votava ⁶⁴ , 2012	98	99,5			1,6	

Kaur ⁶⁶ , 2010			0,19	
Gleeson ⁶⁹ , 2008	90,9	99,6		1,5
Silveira ²³³ , 2008	87,5		0,31	0,1
Gruñeiro-Papendieck ⁶⁸ , 2008	100		0,02	60
Cavarzere ⁷¹ , 2005	100	99,8		
Varness ⁷² , 2005	72,73	99,65		0,98 99,99

La sensibilidad y especificidad comunicadas por los programas de cribado neonatal para HSC fueron buenas independientemente del protocolo empleado. La mayoría de los programas comunicaron una sensibilidad con valores que oscila entre 73 y 100% y una elevada especificidad con porcentajes alrededor del 100%. En nuestro centro de cribado, una vez optimizado el programa de cribado, se obtienen los mejores datos con una sensibilidad del 99,04% y una especificidad del 100%.

Existe un problema con el cálculo de la tasa de FP porque dependiendo del trabajo que se revise el concepto de FP toma diferentes significados. Para algunos autores FP es el porcentaje de RN a los que se solicita una segunda muestra de sangre recogida en papel de filtro para confirmar los resultados y, otros, lo definen como los RN que dan positivo en el cribado y son derivados a las unidades clínicas de referencia. En este estudio los FP son los RN que requieren una segunda extracción, con este criterio, la tasa de FP en esta población es del 0,8%. Observando los resultados de varios estudios recogidos en la **Tabla 90** la tasa de FP de nuestro trabajo es superior al resto, pero teniendo en cuenta que en estos estudios los puntos de corte se definían como el percentil 99 o incluso el percentil 97 de la concentración de 17OHP es imposible tener una tasa de FP muy inferior al 1%. En el estudio de Olgemöller *et al.*²¹³ que definían explícitamente la tasa de FP como en nuestro trabajo, obtuvieron una tasa de FP de 0,73%, similar a nuestro resultado. Si por el contrario, en nuestro trabajo definiésemos los FP como los RN que derivados al pediatra resultan ser sanos, la tasa de FP sería de 0,08%, comparable a lo publicado para otras regiones.

En relación a esto, también existen discrepancias en los valores de VPP que están causadas principalmente por la variabilidad de la incidencia de la HSC entre las distintas regiones y por el número de FP, que como se acaba de comentar cambia mucho de unos

estudios a otros. En general, se observa que el VPP es mejor en los RN a término que en los prematuros, aunque al tratarse de una enfermedad rara el VPP siempre será bajo²³⁴.

Como se ha indicado anteriormente, los datos aportados deben ser tomados con cautela a la hora de comparar los resultados ya que los estudios analizados presentan una gran variabilidad, no sólo en cuanto al cálculo de la tasa de FP, sino también en cuanto a los resultados de especificidad, sensibilidad, VPP, VPN ya que no está claro en base a qué se calculan. Unos estudios toman como referencia los casos, otros las muestras o tasa de rellamadas. Además, se aplican diferentes técnicas analíticas, diferentes kits comerciales, puntos de corte en función del peso, EG, etc. En algunos estudios, a su vez, varían los protocolos a lo largo del tiempo, como los puntos de corte e incluso la metodología analítica y en el diseño del estudio no analizan por separado cada uno de esos periodos. En el presente trabajo sí se realizan estudios individuales para cada protocolo utilizado a lo largo del tiempo.

Un programa de cribado pretende ajustar la tasa de FP lo máximo posible evitando a toda costa los FN. El objetivo de cualquier programa de cribado es la detección de todos afectados de la enfermedad a la que va dirigido el cribado. La mayoría de los autores indican que la especificidad de sus programas de cribado para HSC es muy próxima al 100% como se recoge en la Tabla 89, pero son pocos los estudios en los que los FN detectados han sido examinados exhaustivamente. Es el caso de Sarafoglou⁶², Varness⁷² o Schreiner²³⁵.

La medida de la tasa de FN es muy complicada, en primer lugar no hay forma de detectar todos los pacientes de HSC, ya que algunos de ellos, especialmente las formas leves presentan muy pocos o ningún síntoma por lo que son detectados mucho más tarde o incluso nunca. Teniendo en cuenta únicamente aquellos que presentan sintomatología antes de la pubertad y que se podrían beneficiar del tratamiento precoz, puede transcurrir hasta una década antes de que estos pacientes sean detectados. Por otra parte, un requisito fundamental para el cálculo de FN es el uso de un mismo ensayo y puntos de corte en un largo periodo de tiempo, esto es complicado en los programas de cribado de HSC ya que ha sufrido muchos ajustes a lo largo del tiempo²³⁶. Pese a la dificultad, hay varios trabajos que han analizado la tasa de FN del cribado neonatal de HSC^{62,72,235}.

El estudio realizado en Colorado por Varness *et al.*⁷² afirmó que su programa de cribado no era útil para su principal objetivo (prevención de crisis de pérdida salina y correcta asignación de sexo) ya que detectaron FN incluso de formas de pérdida salina. Detectaron 8 niños no diagnosticados de HSC por cribado (7 niñas), 4 de ellos con la forma de pérdida salina en un total de 239879 RN analizados. Son unos resultados muy desalentadores, pero analizando el programa de cribado mostró carencias en el protocolo utilizado. En primer lugar, utilizan el peso para establecer los puntos de corte, sistemática que se ha descartado en el presente estudio precisamente porque no habría identificado uno de los casos de HSC y, en segundo lugar, los niveles de 17OHP de los FN, que pertenecen todos al mismo grupo de peso (> 2200g), son muy elevados y a la vez próximos al punto de corte, con lo que se puede afirmar que, al menos para ese grupo de peso el punto de corte no está bien definido.

Se detectaron otros FN de formas de pérdida salina en Minesota⁶² y Alemania²³⁵. Sarafoglou⁶² afirmó que en Minnesota el programa de cribado no detectó 15 casos, 5 formas de pérdida salina y 10 formas virilizantes simples, de un total de 52 afectados en un periodo de 12 años tras el análisis de 838241 RN. Schreiner *et al.*²³⁵ detallaron 5 FN en el programa de cribado de HSC alemán, dos formas de pérdida salina (gemelas) y 3 virilizantes simples. En ningún caso falleció por crisis de pérdida salina ninguno de los RN citados que no fueron detectados a través del cribado neonatal, por lo que se puede afirmar que los casos más severos que pueden derivar en fallecimiento a los pocos días de vida son diagnosticados mediante el cribado al presentar niveles de 17OHP más elevados.

No se conoce la causa de los resultados FN, podría deberse a un retraso en el aumento de las concentraciones de 17OHP en algunos pacientes debido a inmadurez enzimática (se comentará posteriormente), a la sensibilidad del ensayo o a la edad a la que se realiza el análisis⁶², ya que se sabe, que si la extracción de la muestra se realiza muy precozmente la sensibilidad para la detección de RN afectados disminuye drásticamente²³⁷. Además, la fisiopatología subyacente a la enfermedad aún no es totalmente conocida. Un ejemplo es el hecho de que en niñas con formas de pérdida salina que presentan una actividad enzimática menor al 2%, no siempre presentan un gran virilización en sus genitales, en cambio, en niñas con formas virilizantes simples, que tienen mayor actividad enzimática, es habitual encontrar grados de virilización más altos

(Prader entre IV y V) ²³⁸. Por lo tanto, se puede asumir que esta variabilidad fenotípica también podría causar variabilidad en los niveles de 17OHP perinatales ²³⁵.

Existe otro estudio que pretende estimar la tasa de FN en el cribado de HSC pero se realizó sobre una población que no había sido cribada previamente. En dicho trabajo, Votava *et al.* ²³⁶ llevaron a cabo un estudio en población del centro de Europa cuantificando los niveles de 17OHP en niños que padecen HSC sobre las muestras de sangre recogidas en papel de filtro que se utilizaron para el cribado neonatal de otras patologías. No se les había realizado el cribado de HSC al no estar implantado en esas regiones. Consiguieron detectar todas las formas de pérdida salina de HSC que estaban diagnosticadas y de las 33 formas no clásicas de HSC detectaron todas excepto 10. Estos 10 niños que no se habrían identificado mediante el cribado son los que se diagnosticaron más tarde al presentar formas más leves que el resto; no obstante esos 10 niños presentaron excesivo crecimiento y aceleración en la edad ósea similar al resto.

Hay artículos en los que se ha intentado hacer una estimación de los FN del cribado de HSC en población de niños fallecidos ^{221,239}. Ambos estudios se hicieron sobre poblaciones no cribadas y a pesar de que realizaron un planteamiento similar llegan a conclusiones contradictorias.

En el estudio elaborado sobre población del Reino Unido dónde no está implantado el cribado neonatal de HSC ²²¹ se concluyó que el hecho de no cribar esta enfermedad no implica una mayor mortalidad. Justo lo contrario fue demostrado en numerosas ocasiones en otros estudios en los que se comparaban poblaciones cribadas con otras no cribadas como se ha comentado anteriormente, esto se debe al avance en el conocimiento, diferencias de años y cobertura asistencial. Este estudio presenta grandes limitaciones reconocidas incluso por los autores, se citan a continuación sólo algunas de ellas. Por una parte, utilizaron una población muy reducida para definir puntos de corte de 17OHP (100 RN prematuros, 100 RN a término). Analizaron también un grupo control de casos diagnosticados, pero en alguno de los casos, la cuantificación de 17OHP se realizó en muestras de sangre obtenidas después de iniciar el tratamiento, por lo tanto, no deberían ser tenidas en cuenta. De los 1798 RN fallecidos analizados 172 presentaron niveles de 17OHP por encima del punto de corte que establecieron, pero sólo 6 de estos

RN presentaron una concentración de 17OHP superior a la del caso afecto con nivel de 17OHP más bajo, por lo tanto sólo a estos 6 RN se les realizó el estudio genético resultando ser negativo. Existiendo tantos errores metodológicos en este estudio la afirmación que expusieron en el sentido de que la ausencia de cribado de HSC no implica un aumento de la mortalidad por HSC en la población neonatal, debe ser cuanto menos, cuestionada.

El trabajo de Strnadova *et al.*²³⁹ está mejor planteado. Analizaron los niveles de 17OHP de una población de RN fallecidos sin causa aparente. Los puntos de corte utilizados se definieron a partir de una población cribada real ajustados por peso y edad²¹³ y todos los casos que presentaron niveles de 17OHP superiores al punto de corte fueron sometidos al análisis genético. Se detectó que 3 de los 242 RN analizados probablemente fallecieron a causa de HSC no diagnosticada y podrían haberse beneficiado de un programa de cribado neonatal dirigido a la detección de HSC²¹³.

4.5. OBJETIVO DIAGNÓSTICO DEL PROGRAMA DE CRIBADO NEONATAL DE HSC

Al analizar lo publicado por los diferentes autores respecto a los FN se observan de nuevo discrepancias que derivan de lo que cada uno considera como objetivo del cribado de HSC. Hay algunos estudios que opinaron que el cribado de HSC también ha de detectar formas no clásicas de HSC, otros que creían que el cribado de HSC va dirigido a la detección únicamente de las formas clásicas, que si no son detectadas a tiempo comprometen la vida del RN⁶⁸. Por lo tanto, es importante definir exactamente la cobertura y el objetivo de un programa de cribado neonatal de HSC.

Si nos ceñimos a los requisitos que debe cumplir una enfermedad para que se pueda establecer un programa de cribado neonatal dirigido su detección¹⁷⁶ debería tratarse de una enfermedad que requiera ser identificada en un periodo de tiempo en el que no se detecte de forma clínica y antes de que se produzca un daño irreversible. Este no es el caso de las formas no clásicas de la HSC, ya que estos niños suelen ser asintomáticos y no necesitarían tratamiento hasta la niñez tardía o adolescencia; por otra parte, no está claro el hecho de que instaurar un tratamiento precoz en las formas no clásicas pueda ser beneficioso para el niño dada la sobreexposición a tratamiento^{50,211,240},

que puede tener efectos adversos, y además, queda por ver, si existen diferencias en cuanto a crecimiento y desarrollo entre los que han sido diagnosticados muy precozmente mediante el cribado y los que se diagnostican más tarde clínicamente en el grupo de pacientes de HSC no clásica²¹⁴.

Además, el ajustar los puntos de corte para la detección de las formas no clásicas de HSC supondría un aumento excesivo de la tasa de FP⁶⁸, con la consecuente reducción de la eficacia diagnóstica del programa de cribado.

El motivo por el que existen estas diferencias de criterios es el hecho de que las formas de HSC no son fácilmente clasificables en los distintos subtipos de presentación, sino que en realidad se trata de un espectro continuo de síntomas y signos²¹⁴, por ese motivo hay formas moderadas o leves, las no clásicas, que podrán ser detectadas por el cribado aunque no sea el objetivo del mismo^{218,240,241}.

Por lo tanto, las formas a las que va dirigido el cribado son las formas clásicas severas, aquellas en las que una crisis suprarrenal precoz pueda provocar la muerte del RN en los primeros días de vida y en las que una virilización muy acusada en aquellas niñas pueda provocar una asignación de sexo incorrecta^{211,242}.

Hasta la fecha, y teniendo en cuenta que el objetivo del cribado de HSC es la detección de formas pérdida salina de déficit de 21OH, en nuestra población cribada no se ha detectado ningún FN.

4.6. EVALUACIÓN DEL PROGRAMA DE CRIBADO NEONATAL DE HSC

El objetivo último de un programa de cribado neonatal es tener el diagnóstico confirmatorio e instaurar el tratamiento de los casos detectados lo más precozmente posible, antes de que se manifiesten los síntomas de la enfermedad, para evitar o minimizar los daños en el RN. Para garantizar la consecución de los objetivos de un programa de cribado es necesario establecer unos requisitos mínimos en cuanto a una serie de etapas claves como son: toma de muestra, transporte, recepción, análisis y obtención de resultados por parte del laboratorio de cribado y la derivación urgente de los casos detectados a la unidad clínica de referencia correspondiente. Por este motivo, son tan importantes los procesos pre y post analíticos en un programa de cribado

neonatal. Estos objetivos se han cuantificado en este trabajo mediante los indicadores evaluados en la **Tabla 54** donde se puede observar el cumplimiento de los umbrales establecidos en diferentes guías nacionales e internacionales^{243,244}.

Dada la importancia de estos indicadores para el correcto funcionamiento de un programa de cribado neonatal y para que dicho programa sea eficaz, recientemente desde el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad se han definido una serie de objetivos de calidad que deben cumplir las etapas del programa y los requisitos necesarios o recomendables para la consecución de estos objetivos²⁴⁵. En la **Tabla 91** se recogen los objetivos que están directamente relacionados con el laboratorio de cribado. Se indican también los niveles óptimo y aceptable que han sido definidos.

Tabla 91. Objetivos de calidad y criterios para el laboratorio de cribado neonatal.

Objetivos de calidad del laboratorio de cribado neonatal	<i>Óptimo (%)</i>	<i>Aceptable (%)</i>	<i>Resultados propios (%)</i>
Edad a la extracción primera muestra: entre las 24-72 horas de vida	99	95	96
Calidad de la muestra: muestras no válidas	0,5	2,0	0,11
Trazabilidad: muestras recibidas con resultado final	100	99	100
Transporte: días desde extracción hasta llegada al laboratorio < 4	99	95	96,8
Tiempo de respuesta: < 3 días	99	95	95,1
Edad del RN al informe primera muestra: < 10 días	99	95	99,4
Edad del RN al informe segunda muestra: < 20 días	99	95	75,4
Remisión de casos positivos al pediatra especialista	100	100	100

Nuestro laboratorio de cribado neonatal cumple todos los criterios propuestos por el Ministerio, en muchas ocasiones incluso cumple los niveles óptimos que garantizan la máxima eficacia del programa. Los cálculos de tiempos se corrigen excluyendo los días no laborables (fines de semana y festivos). Para la edad a la extracción se contabilizan días naturales. El único objetivo de calidad que se incumple es que la edad al informe de segundas muestras sea antes de 20 días. Esto se debe a que en nuestro protocolo cuando es necesario confirmar algún resultado, la segunda extracción se realiza a la semana de obtener el resultado de la primera muestra, y si son prematuros a los 15 días de vida, por lo tanto, no todas las repeticiones pueden estar informadas a los 20 días de vida.

4.7. EVOLUCIÓN DE LOS NIVELES DE 17OHP Y OTROS ANALITOS RELACIONADOS EN FUNCIÓN DE LA PATOLOGÍA DEL RN

Entre los FP, los RN que presentan niveles elevados de 17OHP en la prueba de cribado neonatal sin padecer la enfermedad, en este trabajo se han diferenciado dos grupos, uno está formado por aquellos en los que los niveles de 17OHP se normalizan en la repetición de la prueba del cribado o en la primera visita al especialista y, otro, en los que los RN presentan niveles elevados de 17OHP en determinaciones consecutivas sin presentar signos ni síntomas clínicos del déficit de 21OH, y que se normalizan espontáneamente sin ninguna intervención, son RN con hiper17OHPemia transitoria.

Mientras que el manejo de los RN afectos está perfectamente estandarizado, el manejo y seguimiento de RN con hiper17OHPemia transitoria está aún sin protocolizar. Entre otras cosas se debate sobre si es necesario iniciar una terapia en estos RN y sobre si se iniciaría ya al nacimiento con su consecuente sobretratamiento. También es criticado que estos niños son sometidos a múltiples pruebas para descartar la enfermedad provocando un gran estrés en las familias. A raíz de todas estas cuestiones, en el presente trabajo se ha evaluado el comportamiento de este grupo de RN frente a los FP que se normalizan en la segunda prueba de cribado, formas no clásicas y clásicas de la enfermedad, tanto en el momento del cribado como en medidas posteriores de la concentración de 17OHP en suero, además de cortisol y aldosterona.

En la muestra inicial del cribado neonatal existen diferencias significativas para los niveles de 17OHP entre el grupo de HSC clásica vs FP y entre el grupo de HSC clásica vs hiper17OHPemia transitoria, el resto de parejas no reflejan diferencias significativas.

En los niveles de 17OHP en suero, sólo existen diferencias significativas en la primera determinación, éstas se dan entre el grupo de FP y el resto de grupos, no se mantienen las diferencias que se observaban entre el grupo de HSC clásica vs hiper17OHPemia transitoria en la muestra inicial del cribado ya que están con tratamiento.

Lo que se deduce de este trabajo es que un grupo de FP se normalizará ya en el periodo de cribado, pero los que presentan hiper17OHPemia transitoria en los primeros controles realizados por el pediatra endocrino no se diferenciarán de las formas de HSC

no clásica, por lo tanto, es imprescindible realizar un seguimiento tanto clínico como bioquímico de estos niños.

Analizando estos resultados junto con los aportados por estudios similares^{240,242,246} se observa una gran disparidad. En cuanto a cobertura y descripción de la población, nuestro trabajo es el más completo ya que analiza 4 grupos diferentes de RN: FP, hiper17OHPemia transitoria, HSC no clásica e HSC clásica; en cambio, Cavarzere *et al.*²⁴⁰ compararon FP, RN con hiper17OHPemia transitoria y RN con HSC sin diferenciar entre formas de HSC; y Fernández *et al.*²⁴² sólo cotejaron hiper17OHPemia transitoria con pacientes de HSC, tampoco diferenciaron entre las distintas formas de HSC.

Cavarzere *et al.*²⁴⁰ observaron, a diferencia de nuestro estudio, que en el cribado existían diferencias significativas en los niveles de 17OHP entre los FP y los que presentan hiper17OHPemia transitoria, estas diferencias se mantuvieron en la primera prueba de confirmación, como en nuestro caso. El grupo de hiper17OHPemia transitoria alcanzó niveles normales de 17OHP entre el tercer y sexto mes de vida, la misma evolución se observó para los demás analitos cuantificados. Esta observación se repite en nuestro estudio. Por su parte, Fernández *et al.*²⁴², afirmaron que en el cribado los niveles de 17OHP de los pacientes de HSC son significativamente superiores a los que presentan hiper17OHPemia transitoria y que esta diferencia se mantiene en suero.

De la combinación de estos estudios junto con el nuestro se puede afirmar que los RN con HSC clásica se podrán identificar ya en el momento del cribado lo que permite iniciar el tratamiento adecuado muy precozmente. Para los RN que presentan hiper17OHPemia transitoria no es necesario realizar la inmensa batería de pruebas diagnósticas requeridas para descartar la HSC ni iniciar un tratamiento; es suficiente realizar a estos niños asintomáticos un control tanto clínico como bioquímico para observar su evolución, ya que la normalización de los niveles de 17OHP y otros analitos involucrados se produce de forma espontánea en los primeros meses de vida.

Sólo en nuestro estudio se analizó lo que ocurría con los pacientes de HSC no clásica, observando que no se pueden diferenciar a priori de la hiper17OHPemia transitoria al no existir diferencias significativas entre ambos grupos, pero siguiendo con el hilo de la reflexión anterior, es prudente esperar hasta que se normalicen los valores de

17OHP antes de iniciar tratamiento o realizar pruebas más exhaustivas ya que la hiper17OHPemia transitoria se normalizará y si estamos ante un caso de HSC no clásica y no han aparecido los signos clínicos de la enfermedad, tampoco sería necesario implantar un tratamiento. Si pasados los 6 meses de vida los niveles de 17OHP permanecen elevados es cuando se puede iniciar el diagnóstico diferencial de formas no clásicas de HSC.

4.8. FACTORES PERINATALES QUE INFLUYEN EN LOS NIVELES DE 17OHP

Se conoce muy poco sobre el impacto de factores perinatales en los niveles de 17OHP, por este motivo en el presente trabajo se realiza un estudio de numerosos factores tanto maternos, del parto, neonatales y otros perinatales no sólo para entender la esteroidogénesis fetal y neonatal, sino también para identificar factores que modulan los niveles de 17OHP y así mejorar la especificidad del cribado de HSC.

El mecanismo que explica la elevación de los niveles de 17OHP, especialmente en prematuros no se conoce con exactitud, entre las posibles causas que producen la elevación de 17OHP, sin estar asociada a déficit enzimático, están el hecho de que exista reactividad cruzada con otras especies como ácido glucurónico y conjugados sulfatados, que se sintetizan en la adrenal fetal y se mantienen en los primeros días de vida, la inmadurez de las enzimas involucradas en la esteroidogénesis, la inmadurez renal con la consecuente insuficiencia en la función excretora o niveles elevados de ACTH como resultado del estrés neonatal⁷¹.

Hay autores que intentan relacionar la elevación de los niveles de 17OHP con factores de sufrimiento fetal crónico como Ersch *et al.*²⁴⁷ que compararon lo que ocurría en los niveles de 17OHP de RN que sufrieron infección en el líquido amniótico con los que sufrieron preeclampsia. En base a los resultados concluyeron que aquellos que sufrieron infección de líquido amniótico, al ser un factor de sufrimiento fetal agudo, no presentaron niveles más elevados de 17OHP porque el parto se produjo lo suficientemente rápido como para que el RN no sufriera intraútero, en cambio, la preeclampsia que provoca un estrés fetal prolongado, dio como resultado niveles más elevados, por lo tanto, afirmaron además, que los niveles de 17OHP podrían ser utilizados

como marcador de sufrimiento fetal crónico. En cambio, otro estudio²²⁵ aseguró que la corioamnionitis, un factor de sufrimiento fetal agudo, provocaba el aumento de niveles de 17OHP de forma significativa. Por lo que no se podía asegurar que los niveles de 17OHP puedan ser utilizados como marcador de sufrimiento fetal crónico. Gatelais *et al.*²⁰⁷ también estudiaron algunos factores maternos y neonatales como la preeclampsia o el síndrome de distrés respiratorio observando mayores niveles de 17OHP en ambas patologías.

Hay otros estudios en los que no se reprodujeron estos resultados, como en el elaborado por Huysman *et al.*²⁴⁸ en el que no se encontraron diferencias en los niveles de 17OHP en función de preeclampsia ni tipo de parto, pero sí en función de otros factores neonatales como displasia pulmonar o enfermedad severa medida mediante la escala SNAP. Paul *et al.*²²⁵ corroboraron la relación positiva de 17OHP con puntuación elevada según la escala SNAP.

Estas diferencias en los resultados obtenidos por los diferentes autores se debe a que la variable 17OHP es una variable con una distribución no normal, que precisa un tratamiento especial para poder realizar estudios estadísticos. En muchas publicaciones se han realizado transformaciones logarítmicas para normalizar la variable, realizar estudios de regresión múltiple y detectar factores influyentes en los niveles de 17OHP. En nuestra experiencia esta transformación no ha permitido obtener una variable con las características adecuadas para realizar un estudio de regresión múltiple (linealidad, homocedasticidad, independencia, normalidad). Por este motivo, al no emplear una metodología adecuada, los resultados que derivan de los estudios de regresión múltiple entre los distintos autores son tan dispares.

Un trabajo en el que la variable 17OHP se trató correctamente, ya que se utiliza una transformación Box Cox para normalizarla, y en el que se analizaron más factores neonatales y maternos es el elaborado por Ryckman *et al.*{Ryckman:ec}. En este trabajo se reafirmó el hecho de que las variables que más fuertemente influyen en los niveles de 17OHP son el peso y la EG. Otras variables que mostraron asociación con los niveles de 17OHP son sepsis, bilirrubina total, puntuación APGAR tanto a 1 como a 5 minutos, tipo

de parto, tipo de alimentación, desprendimiento de placenta. Estos resultados coinciden con los de nuestro trabajo pero no se recogió explicación alguna a estos hechos.

Analizando los resultados del presente trabajo se obtienen conclusiones interesantes y no contempladas en otros estudios.

En cuanto a los factores relacionados con el embarazo a continuación se detallan los que provocan elevación significativa de los niveles de 17OHP en el cribado.

Los RN cuya gestación se ha producido a través de **inseminación artificial** poseen niveles más elevados de 17OHP. Esto se debe a que este tipo de embarazo presentan más problemas a lo largo de la gestación y en un porcentaje importante van a finalizar prematuramente. Observando la población de RN empleada en esta parte del estudio, el 93,3% de los RN gestados a través de inseminación artificial, han nacido de forma prematura, este porcentaje es muy elevado sobre todo si se compara con el porcentaje de RN pretérmino de todo el grupo analizado, que supone el 56,4%.

El **líquido amniótico meconial** provoca la elevación de forma significativa de los niveles de 17OHP en los RN a término. En los RN pretérmino no se puede concluir nada ya que el número de RN prematuros que lo presentan es muy escaso. La presencia de líquido amniótico meconial antes de la EG de 38 semanas es muy rara. La evacuación de meconio representa un acontecimiento de la maduración, por este motivo no es habitual en los prematuros, pero puede producirse en el 35% o más de los fetos postérmino²⁴⁹. Este efecto del líquido meconial se explica de dos maneras. Por un lado, la expulsión del meconio en útero ocurre principalmente en situaciones de estrés fetal, que también provocaría la elevación de 17OHP. Por otro lado, la composición del líquido meconial contiene inhibidores del surfactante como ácidos grasos libres, bilirrubina, diversas enzimas y albúmina, lo que provoca un estrés en el RN en el nacimiento al presentar dificultad en la respiración, lo que también provoca elevación de 17OHP, en esta ocasión post parto²⁴⁹.

Al estudiar lo que ocurre con distintas patologías del parto, la **desproporción fetopélvica** es el único caso en el que se observa elevación de 17OHP en los RN a término. Para RN prematuros es imposible que se dé esta situación ya que no podrán alcanzar tal desarrollo fetal como para que exista una desproporción fetopélvica que

provoque problemas en el parto. Debido a la desproporción fetopélvica el RN sufrirá más al nacimiento, lo que provoca un estrés que se refleja en el aumento de 17OHP.

El resto de variables para las que se observa un aumento de 17OHP están relacionadas con un parto prematuro: **incompetencia cervical, parto prematuro con inicio espontáneo de trabajo de parto y amenaza de parto prematuro**. Este hecho reafirma la necesidad de la estratificación de los puntos de corte de 17OHP en función de la EG dada la gran influencia de la prematuridad en los niveles elevados de 17OHP.

Cuando se analiza la influencia de diversas **patologías del RN** se produce elevación de los niveles de 17OHP en todas ellas, excepto la insuficiencia renal. Para la insuficiencia renal, en realidad, los resultados obtenidos no son concluyentes ya que el número de RN que presentan esta patología es muy bajo con lo que la potencia del test estadístico disminuye drásticamente.

A la vista de estos resultados se puede afirmar que cualquiera que sea la patología que pueda presentar un RN prematuro va a provocar un aumento en los niveles de 17OHP. Además, muchos de estos problemas de salud se relacionan con la prematuridad, aunque no se pueda saber en muchos casos si la prematuridad es la causa de la enfermedad o si la presencia de la enfermedad provoca un parto prematuro.

En el grupo de RN a término el porcentaje que sufren estas patologías es muy bajo, en este grupo de RN sólo la **ictericia** y la **sepsis** provocan aumento de la concentración de 17OHP.

El análisis de otros factores perinatales también muestran efectos interesantes.

En cuanto a la **multiparidad** se trata de un factor de riesgo que en la mayoría de las ocasiones provoca un parto prematuro. De hecho, el aumento de niveles de 17OHP en multiparidad sólo aparecen en el grupo de RN prematuros.

La **medicación** es un reflejo del estado de salud del RN. Por ese motivo, tanto RN prematuros como a término que requieren medicación presentan valores de 17OHP más elevados. Los niveles elevados se deben a la patología neonatal que presenta el RN.

La influencia de la **transfusión** también está relacionada con la situación de enfermedad del RN. Los RN transfundidos presentan valores más elevados de 17OHP que

los demás, no observándose disminución por posible hemodilución de la 17OHP, por lo que, la elevación de los niveles de 17OHP sigue estando vinculada a la enfermedad del RN que precisa dicha transfusión.

La variable **ingreso** se puede relacionar con el estado general del RN, en maternidad estarán los RN que no requieren ningún cuidado especial, ya que han nacido completamente sanos. En neonatal ingresarán aquellos que requieran una observación más exhaustiva de su estado y en la UCI ingresarán aquellos que han nacido o que han experimentado en las primeras horas de vida algún estado crítico que pone en compromiso su vida. Para esta variable ingreso existen diferencias significativas tanto para el grupo de RN que proceden de la UCI como los que proceden de maternidad. En los RN ingresados en UCI, las diferencias se deben a que en este grupo existe una mayor proporción de RN con niveles elevados de 17OHP. En cambio, en el grupo de RN que permanecen en maternidad tras el nacimiento, es mayor la proporción de RN con niveles normales de 17OHP.

En la **dieta** ocurre algo similar, se observan diferencias significativas para dieta absoluta y alimentación materna. Los RN que tienen dieta absoluta presentan niveles más elevados de 17OHP, mientras que los que gozan de alimentación materna van a presentar en su mayoría niveles de 17OHP normales. De nuevo se trata de variables que reflejan el estado crítico o no del RN. No son las causantes de la elevación de los niveles de 17OHP si no que es el estado crítico del RN lo que provoca el aumento de 17OHP.

Un argumento equivalente explica lo que sucede con la puntuación APGAR, que proporciona una valoración macroscópica y clínica del RN justo después del parto, al primer y quinto minuto de vida. Tanto para el minuto 1 como 5, se observa que la proporción de los niveles normales de 17OHP es mayor en el grupo de APGAR 7-10, que refleja un estado adecuado de salud del RN. Esta proporción va disminuyendo hasta invertirse en el grupo de APGAR < 4, en el que hay más RN que presentan niveles de 17OHP elevados. Estas diferencias se mantienen para el APGAR a los 5 minutos, pero son más discretas ya que la mayoría de los RN se estabilizan una vez transcurridos los primeros minutos de vida. Aún así, se mantiene que los RN con puntuación APGAR menores presentan valores más elevados de 17OHP.

La puntuación APGAR es un reflejo del estado general del RN, así se entiende que los grupos de puntuación APGAR más bajo, que indica peor estado de salud, presentan una proporción mayor de 17OHP alta.

De este concienzudo análisis de factores que influyen en los niveles de 17OHP se puede concluir que las causas básicas por las que se elevan los niveles de 17OHP son la enfermedad del RN y la prematuridad.

La enfermedad del RN provoca una situación de estrés perinatal que induce la secreción de ACTH para activar el eje HHS y estimular la síntesis de cortisol para responder al estrés que produce la enfermedad, con lo que aumenta también la síntesis de las especies intermedias como la 17OHP²⁴².

La prematuridad provoca una situación más compleja. Por una parte existe una actividad residual de la corteza adrenal fetal, con lo que existen especies de la esteroidogénesis fetal que pueden producir una reactividad cruzada en la reacción de cuantificación de la 17OHP²⁴³, y por otro, existe inmadurez endocrina, la maduración de la glándula suprarrenal se retrasa en algunos neonatos y la producción de algunas enzimas de la esteroidogénesis suprarrenal se retarda, por este motivo se acumula la síntesis de 17OHP (que se produce ya en el periodo fetal) pendiente de su transformación en etapas sucesivas de la esteroidogénesis suprarrenal^{223,226}.

Hay algunos estudios que descartan la reactividad cruzada de especies residuales de la esteroidogénesis fetal como causa de elevación de niveles de 17OHP. En uno de ellos se cuantifica la concentración de 17OHP por HPLC²¹⁸, lo que permite separar los distintos compuestos que pueden interferir, y el resultado que se obtiene es una concentración elevada de 17OHP. En otro estudio²⁴⁰ la cuantificación de niveles normales de pregnanetriolona en orina descarta la elevación de 17OHP debida a HSC por déficit de 21OH o reactividad cruzada, por lo que se deduce que se debe a una baja actividad enzimática de la 21OH o elevada de la enzima 3βHSD debido a una maduración enzimática lenta de la esteroidogénesis suprarrenal. También se observó esta maduración lenta en RN a término²⁵⁰. Bolt *et al.*²²⁴ relacionaron además la maduración gradual del eje HHS con la EG realizando un estudio de estimulación del eje con ACTH y analizando las diferentes respuestas entre prematuros nacidos antes de 30 semanas de gestación y

prematuros nacidos en las semanas 30-33 de gestación. Demostraron que existe una maduración gradual del eje durante el tercer trimestre de la gestación. Observaron diferencias en la ratio cortisol/17OHP que sugiere una inmadurez de las enzimas de la corteza adrenal. Los niveles bajos de cortisol que detectaron después de la estimulación con ACTH en los RN con EG menor a 30 semanas, indican que la respuesta de la corteza adrenal en estos niños puede ser inadecuada en situación de estrés, ya que se sintetiza mucha 17OHP pero no es transformada adecuadamente a cortisol, lo que sugiere un descenso en la actividad de la enzima 11β OH.

Huysman²⁴⁸ en su estudio combinó ambas causas de elevación de niveles de 17OHP, prematuridad y enfermedad, comparando la producción de cortisol en RN prematuros enfermos con RN prematuros sanos y obtuvo resultados similares a Bolt²²⁴. Los prematuros enfermos no secretaron más cortisol que los sanos. El hecho de que los niveles de 17OHP aumenten pero que el cociente cortisol/17OHP sea bajo sugiere que existe una reacción de las adrenales al estrés al incrementar un precursor del cortisol, pero muestra baja capacidad, especialmente en los enfermos severos, para transformar este precursor en cortisol. Este hecho de nuevo lo atribuyen a un descenso en la actividad de la enzima 21OH o $11\beta\text{OH}$. Aún así, los prematuros sanos también presentan esa inmadurez de las enzimas de la esteroidogénesis como demostró Linder *et al.*²⁵¹ al presentar una serie de prematuros sanos que muestran niveles de 17OHP mayores que otros RN a término de características similares.

4.9. EFECTO DEL TRATAMIENTO PRENATAL CON CORTICOIDES EN LOS NIVELES DE 17OHP

Otro factor que puede interferir en la concentración de los niveles de 17OHP del cribado de HSC, pero en este caso disminuyendo dicha concentración, es el tratamiento prenatal con corticoides.

La experiencia de los últimos años ha demostrado que la administración de corticoides durante las últimas semanas de gestación puede reducir la incidencia y gravedad de la enfermedad de la membrana hialina (síndrome de distress respiratorio o de dificultad respiratoria) en niños prematuros. El principio en el que se fundamenta esta terapia está basado en que se considera que la inmadurez de la síntesis de surfactante es

el problema fundamental de esta patología y que los corticoides pueden acelerar la madurez funcional de los pulmones fetales, estimulando la síntesis de surfactante pulmonar. Entre los beneficios del tratamiento prenatal con corticoides se incluyen la gran reducción en la muerte precoz neonatal, reducción del síndrome de distrés respiratorio, reducción de hemorragia intraventricular y enterocolitis necrotizante²⁰⁵. Tal es el beneficio que entre el 20 y el 30% de los RN prematuros reciben terapia prenatal con corticoides²⁵².

Ya en el año 1995 se publicó un consenso por el National Institutes of Health para el tratamiento antenatal con corticoides²⁰⁴. En este documento se recomienda una dosis de corticoides entre las semanas de gestación 24 y 34 de todas las mujeres que estén en riesgo de parto prematuro. La dosis aplicada a las embarazadas que lo precisan consta de dos viales de 12 mg de ésteres de betametasona, el primero en el momento de la identificación del riesgo del parto prematuro y el segundo a las 24 horas. A los 7 días de la última dosis hay una pérdida de eficacia del fármaco por lo que en ocasiones se repite la terapia tras esos 7 días si el riesgo de parto prematuro perdura. En función de las circunstancias del embarazo hay 3 posibilidades de terapia: que se administre media dosis, una dosis completa o más de una dosis.

Es sabido que un tratamiento a largo plazo con corticoides suprime los niveles de 17OHP, esto se refleja en el tratamiento con dexametasona que es utilizado con éxito para prevenir o minimizar la virilización intraútero de las niñas afectas de HSC, ya que suprime el eje HHS con lo que provoca la disminución de los niveles de 17OHP^{253,254}.

La betametasona y la dexametasona tienen capacidad similar para atravesar la placenta y para suprimir el eje HHS, por este motivo, cabe la posibilidad de que el tratamiento prenatal con corticoides a corto plazo pueda disminuir también los niveles de 17OHP interfiriendo en el cribado de HSC. Si se da esta situación, existiría riesgo de mayor tasa de FN en el cribado de HSC. Esta observación es importante ya que los RN que han sido tratados prenatalmente con corticoides suelen nacer de forma prematura, y este grupo presenta puntos de corte de 17OHP más elevados, con lo que el riesgo de no identificar un caso positivo aumenta si la concentración del marcador disminuye por esta causa²⁰⁷.

En nuestro estudio no se encontraron diferencias significativas en los niveles de 17OHP entre RN tratados en periodo prenatal con corticoides y los no tratados. Otros autores^{199,254} obtuvieron los mismos resultados. En cambio, otros²⁰⁷ sugirieron que la terapia con corticoides sí implicaba una disminución en los niveles de 17OHP.

Al igual que Gatelais²⁰⁷, en este trabajo se ha realizado un estudio más detallado de la influencia del tratamiento de corticoides en los niveles de 17OHP al analizar lo que ocurre con la administración de diferentes dosis de corticoides y teniendo en cuenta el tiempo transcurrido entre la última dosis y el nacimiento. El número de dosis que se administran a las embarazadas con riesgo de parto prematuro varía. En la mayoría de las ocasiones se les administra una dosis completa (dos viales de 12 mg de betametasona en un intervalo de 24h) pero hay otras en las que la dosis es inferior, únicamente se administra un vial de 12mg y, en cambio, otras en las que al cabo de unos días, si se repite el episodio de riesgo de parto prematuro, se administran más dosis de corticoides.

Gatelais *et al.*²⁰⁷ encontraron diferencias significativas para los niveles de 17OHP entre los RN no tratados y los que han sido sometidos a varias dosis de glucocorticoides antes del nacimiento. También hallaron una correlación negativa entre el tiempo transcurrido desde la última dosis y los niveles de 17OHP. Los resultados obtenidos en nuestro trabajo no coinciden, no habiéndose encontrado diferencias en la concentración de 17OHP en ninguno de los casos. Una explicación a estas discrepancias puede ser el hecho de que Gatelais en su estudio no tuvo en cuenta la EG. Todos los RN de ambos estudios son prematuros, pero incluso este grupo de RN, como se ha demostrado nuestro trabajo, presenta diferencias en 17OHP en función de la EG. Tal es así, que incluso Gatelais²⁰⁷ en la discusión de su trabajo, afirmó que los RN que han sido tratados con múltiples dosis presentaban EG menores justificando así que tanto las glándulas adrenales como la hipófisis pueden ser más sensibles a la supresión con corticoides. También señaló que los RN con mayor intervalo de tiempo entre la administración de la betametasona y el cribado eran más jóvenes que el resto, por lo tanto estos resultados pudieron presentar un sesgo debido a EG. Estas aclaraciones ponen de manifiesto la dependencia de sus resultados con la EG de los RN, factor que en nuestro trabajo ya está corregido al tipificar la variable en función de la EG de los RN. La variable EG, al ser un factor de confusión para la concentración de 17OHP, ha de tenerse siempre en cuenta. El

estudio de Ng *et al.*²⁵⁵ mostró que ni el número de dosis de corticoides ni el tiempo transcurrido desde la última dosis afecta a la respuesta hipófisis-adrenal; en dicho trabajo midieron los niveles de ACTH y cortisol en RN cuyas madres habían recibido tratamiento y en RN en los que no existió tratamiento prenatal con corticoides.

4.10. COMENTARIO FINAL

Como se ha mencionado anteriormente, para hacer esta valoración positiva del cribado neonatal de HSC es importante reflejar el objetivo del mismo que es evitar el diagnóstico tardío en las formas clásicas con pérdida salina y su morbimortalidad asociada, e impedir la incorrecta asignación de sexo en mujeres afectas con genitales externos virilizados.

Las formas no clásicas, en ocasiones también son detectadas en el cribado, e igualmente se beneficiarían ya que un diagnóstico precoz mejora la evolución del paciente. Sin embargo, esta razón por sí sola, no justificaría la realización del cribado, ya que estas formas no ponen en riesgo la vida y pueden ser fácilmente diagnosticadas en la infancia ante un cuadro de pseudopubertad precoz, no suponen un riesgo vital para el paciente y no necesariamente se debe instaurar tratamiento inmediato.

En nuestra experiencia con el cribado neonatal de HSC, por un lado, la ratio equilibrada entre varones y mujeres diagnosticados de formas clásicas de HSC indica que el cribado neonatal permitió diagnosticar a todos los varones afectos sin que se haya producido ningún fallecimiento debido a la enfermedad. Todas las formas de pérdida salina fueron detectadas en la primera muestra. El cribado adelantó la edad al diagnóstico lo que permitió instaurar precozmente el tratamiento efectivo que mitiga el espectro clínico de los niños y reduce la mortalidad, también reduce el tiempo de hospitalización con lo que los términos de coste efectividad son adecuados⁵⁵.

Ninguno de los varones tuvo manifestaciones clínicas antes de los resultados del cribado. La virilización genital de las mujeres permitió la sospecha de diagnóstico clínico de la enfermedad, pero en el caso de que la virilización hubiese sido más acusada, la asignación del sexo de estas niñas habría sido el correcto ya que la prueba de cribado también resultó positiva.

Por otro lado, la correcta optimización del programa permitió reducir enormemente la tasa de FP, una de las causas de la escasa incorporación de este cribado a los programas de otras comunidades, además, no se detectaron FN, lo que corrobora la idoneidad del protocolo de cribado establecido y el equilibrio alcanzado entre sensibilidad y especificidad.

La eficacia de un programa de cribado neonatal depende en gran medida de una íntima cooperación entre los trabajadores de la salud involucrados en las distintas etapas del proceso: toma de muestra, análisis del laboratorio, seguimiento, diagnóstico, tratamiento y evolución, el hecho de que en nuestra comunidad exista una infraestructura ya experimentada en la detección neonatal precoz de enfermedades endocrino-metabólicas con unos protocolos bien establecidos y organizados, el incluir la HSC en la cartera no supone ningún esfuerzo logístico extra y los beneficios son evidentes.

Como valoración final, a la vista de los resultados obtenidos a través del programa de cribado neonatal para HSC de la comunidad de Aragón, y en consonancia con las series analizadas^{212,219,241} se puede afirmar este programa de cribado neonatal de HSC es efectivo, tiene un impacto importante en la salud de los niños enfermos, ya que permite adelantar el momento del diagnóstico de la enfermedad en la mayor parte de los afectados permitiendo la instauración de un tratamiento precoz y la prevención de los efectos más adversos de la enfermedad. Esta afirmación queda respaldada por la última guía de práctica clínica del 2010 de la Sociedad de Endocrinología¹² en la que se recomienda el cribado neonatal universal para las formas clásicas del déficit de 21OH. En este documento consenso se estima que este cribado es suficientemente específico y sensible para detectar a casi todos los RN con la forma clásica de la enfermedad y algunos RN con la forma no clásica. Señalan que el cribado de esta enfermedad identifica tanto a niños como a niñas afectados, previene una asignación de sexo incorrecta y disminuye la morbilidad y la mortalidad.

5. CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos planteados las conclusiones que se presentan como definitivas son las siguientes:

Primera: La incidencia de la forma clásica de HSC debida al déficit de 21OH en la población cribada es de 1:17199 RN vivos, que se ajusta a lo publicado por otros autores, tanto a nivel mundial como nacional.

Segunda: El cribado neonatal para HSC es altamente efectivo para la detección de la forma clásica de la enfermedad lo que permite iniciar el tratamiento precozmente tanto en varones como en mujeres disminuyendo la morbimortalidad causada por esta enfermedad.

Tercera: El cribado neonatal de la HSC por déficit clásico de 21OH ha mostrado una mayor efectividad diagnóstica en los varones, ya que no hubo sospecha clínica previa a la información proporcionada por el cribado neonatal, no así en las mujeres, donde todas presentaron signos clínicos al nacimiento.

Cuarta: El programa de cribado neonatal de HSC por déficit clásico de 21OH, ha permitido la detección precoz de formas no clásicas y de una forma clásica de déficit de 3 β HSD, aún no siendo un objetivo del mismo.

Quinta: En el contexto de un programa de cribado neonatal de la forma clásica de HSC debida al déficit de 21OH es imprescindible que cada centro defina sus propios puntos de corte para la 17OHP en función de las características de la población a la que va dirigida y la metodología empleada.

Sexta: El ajuste de los puntos de corte de 17OHP en base a la edad gestacional ofrece un programa de cribado neonatal más efectivo que utilizando el peso. No existen diferencias en los niveles de 17OHP en función de sexo o días de vida a la extracción, por lo tanto, estas variables no han de tenerse en cuenta para definir los puntos de corte.

Séptima: Las características pre y post-analíticas del programa de cribado neonatal para HSC de la comunidad de Aragón cumple los estándares definidos por diversas sociedades científicas.

Octava: La prematuridad y estado de enfermedad del recién nacido debido a cualquiera de las condiciones analizadas en este trabajo, determinan una elevación de los niveles de 17OHP.

Novena: El tratamiento materno con corticoides ante la amenaza de parto prematuro no influye en los niveles de 17OHP, por lo tanto, no repercute en los resultados del cribado neonatal de HSC por déficit clásico de 21OH.

Décima: El cribado neonatal de HSC por déficit clásico de 21OH está justificado siempre y cuando esté integrado en un programa de cribado de enfermedades endocrino-metabólicas ya instaurado y vaya acompañado de una optimización constante del mismo.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. McNicol AM. *The human adrenal gland. Aspects of structure, function and pathology*. En: *The Adrenal Gland*. 2ª ed. Nueva York: Ed. Raven Press, 1992; 1–42.
2. Fraser R. *Biosynthesis of adrenocortical steroids*. En: *The Adrenal Gland*. 2ª ed. Nueva York: Ed. Raven Press, 1992; 117–130.
3. Quinn SJ. & Williams, G. H. *Regulation of aldosterone secretion*. En: *The Adrenal Gland*. 2ª ed. Nueva York: Ed. Raven Press, 1992; 159–189.
4. Parker CRJ. *Dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate production in the human adrenal during development and aging*. *Steroids* **64**, 640–647 (1999).
5. Brown MS, Kovanen PT, Goldstein JL. *Receptor-mediated uptake of lipoprotein-cholesterol and its utilization for steroid synthesis in the adrenal cortex*. *Recent Prog Horm Res* **35**, 215–257 (1979).
6. Miller WL, Bose HS. *Early steps in steroidogenesis: intracellular cholesterol trafficking*. *J Lipid Res* **52**, 2111–2135 (2011).
7. Gwynne JT, Strauss JF. *The role of lipoproteins in steroidogenesis and cholesterol metabolism in steroidogenic glands*. *Endocr Rev* **3**, 299–329 (1982).
8. Miller WL, Auchus RJ. *The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders*. *Endocr Rev* **32**, 81–151 (2011).
9. Forest MG. *Hiperplasia suprarrenal congénita*. En: *Tratado de Endocrinología Pediátrica*. 2ª ed. Madrid: Ed. Díaz de Santos, 1997; 901–935.
10. Gussinyé M, Carrascosa A, Potau N. *Hiperplasia suprarrenal congénita*. En: *Tratado de Endocrinología Pediátrica y de la Adolescencia*. Madrid: Ed. EDIMSA, 1995; 803-818.
11. Migeon CJ, Donohoue PA. *Adrenal disorders*. En: *Diagnosis and treatment of endocrine disorders in childhood and adolescence*. 4ª Ed. Springfield: Ed. Charles C. Thomas, 1994; 717–856.
12. Speiser PW, Azziz R, Baskin LS, Ghizzoni L, Hensle TW, Merke DP, Meyer-Bahlburg HF, Miller WL, Montori VM, Oberfield SE, Ritzen M, White PC. *Congenital Adrenal Hyperplasia Due to Steroid 21-Hydroxylase Deficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline*. *J Clin Endocrinol Metab* **95**, 4133–4160 (2010).
13. Miller WL. *21-hydroxylase deficiency*. En: *Saunders Manual of Pediatric Practice*. Filadelfia: Ed. WB Saunders Co, 1998; 791–797.
14. Miller WL. *The adrenal cortex*. En: *Rudolph's Pediatrics*. 20 Ed. Stanford: Ed. Appelton&Lange, 1996; 1711–1741.
15. Strott CA. *The search for the elusive adrenal steroidogenic 'regulatory' protein*. *Trends Endocrinol Metab* **1**, 312–314 (1990).
16. Miller WL. *Lessons from congenital lipoid adrenal hyperplasia*. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* **5**, 155–161 (1998).
17. Lin D, Sugawara T, Strauss JF 3rd, Clark BJ, Stocco DM, Saenger P, Rogol A, Miller

- WL. *Role of steroidogenic acute regulatory protein in adrenal and gonadal steroidogenesis. Science* **267**, 1828–1831 (1995).
18. Stocco DM. *The role of the StAR protein in steroidogenesis: challenges for the future. J Endocrinol* **164**, 247–253 (2000).
 19. Stocco DM. *Clinical disorders associated with abnormal cholesterol transport: mutations in the steroidogenic acute regulatory protein. Mol Cell Endocrinol* **191**, 19–25 (2002).
 20. Rhéaume E, Lachance Y, Zhao HF, Breton N, Dumont M, de Launoit Y, Trudel C, Luu-The V, Simard J, Labrie F. *Structure and expression of a new complementary DNA encoding the almost exclusive 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/delta 5-delta 4-isomerase in human adrenals and gonads. Mol Endocrinol* **5**, 1147–1157 (1991).
 21. Chung BC, Picado-Leonard J, Haniu M, Bienkowski M, Hall PF, Shively JE, Miller WL. *Cytochrome P450c17 (steroid 17 alpha-hydroxylase/17,20 lyase): cloning of human adrenal and testis cDNAs indicates the same gene is expressed in both tissues. Proc Natl Acad Sci U S A* **84**, 407–411 (1987).
 22. Miller WL. *Androgen synthesis in adrenarcho. Rev Endocr Metab Disord* **10**, 3–17 (2009).
 23. Buckingham JC, Smith T. *The control of ACTH secretion*. En: *Comprehensive Endocrinology: The Adrenal Cortex*. Nueva York: Ed. Raven Press, 1992; 131–158.
 24. Vamvakopoulos NC, Chrousos GP. *Hormonal regulation of human corticotropin-releasing hormone gene expression: implications for the stress response and immune/inflammatory reaction. Endocr Rev* **15**, 409–420 (1994).
 25. Kageyama K, Suda T. *Regulatory mechanisms underlying corticotropin-releasing factor gene expression in the hypothalamus. Endocr J* **56**, 335–344 (2009).
 26. Eberwine JH, Roberts JL. *Analysis of pro-opiomelanocortin gene structure and function. DNA* **2**, 1–8 (1983).
 27. Beins DM, Vining R, Balasubramaniam S. *Regulation of neutral cholesterol esterase and acyl-CoA : cholesterol acyltransferase in the rat adrenal gland. Biochem J* **202**, 631–637 (1982).
 28. Simpson ER, Waterman MR. *Regulation of the synthesis of steroidogenic enzymes in adrenal cortical cells by ACTH. Annu Rev Physiol* **50**, 427–440 (1988).
 29. Le Roy C, Li JY, Stocco DM, Langlois D, Saez JM. *Regulation by adrenocorticotropin (ACTH), angiotensin II, transforming growth factor-beta, and insulin-like growth factor I of bovine adrenal cell steroidogenic capacity and expression of ACTH receptor, steroidogenic acute regulatory protein, cytochrome P450c17, and 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase. Endocrinology* **141**, 1599–1607 (2000).
 30. Parker LN. *Control of adrenal androgen secretion. Endocrinol Metab Clin North Am* **20**, 401–421 (1991).
 31. Foster RH, MacFarlane CH, Bustamante MO. *Recent progress in understanding aldosterone secretion. Gen Pharmacol* **28**, 647–651 (1997).

32. Quinn SJ, Williams GH. *Regulation of aldosterone secretion. Annu Rev Physiol* **50**, 409–426 (1988).
33. Spat A, Hunyady L. *Control of aldosterone secretion: a model for convergence in cellular signaling pathways. Physiol Rev* **84**, 489–539 (2004).
34. Quinn SJ, Williams GH. *Regulation of adrenocortical steroids*. En: *The Adrenal Gland*. 2ª ed. Nueva York: Ed. Raven Press, 1992; 159–189.
35. Williams GH. *Aldosterone biosynthesis, regulation, and classical mechanism of action. Heart Fail Rev* **10**, 7–13 (2005).
36. Capponi AM. *The control by angiotensin II of cholesterol supply for aldosterone biosynthesis. Mol Cell Endocrinol* **217**, 113–118 (2004).
37. Parker LN, Lifrak ET, Odell WD. *A 60,000 molecular weight human pituitary glycopeptide stimulates adrenal androgen secretion. Endocrinology* **113**, 2092–2096 (1983).
38. Lin HY, Muller YA, Hammond GL. *Molecular and structural basis of steroid hormone binding and release from corticosteroid-binding globulin. Mol Cell Endocrinol* **316**, 3–12 (2010).
39. Hammond GL, Smith CL, Underhill DA. *Molecular studies of corticosteroid binding globulin structure, biosynthesis and function. J Steroid Biochem Mol Biol* **40**, 755–762 (1991).
40. Orth DN, Kovacs WJ, DeBold CR. *The adrenal cortex*. En: *Williams-Textbook of Endocrinology*. 8ª Ed. Filadelfia: Ed. WB Saunders Co, 1992; 489–605.
41. Brownie AC. *The metabolism of adrenal cortical steroids*. En: *The Adrenal Gland*. 2ª ed. Nueva York: Ed. Raven Press, 1992; 209–224.
42. Farré Guerrero V. *Corteza suprarrenal*. Madrid: Editorial Reverté; 931–944.
43. Nykanen P, Heinonen K, Riepe FG, Sippell WG, Voutilainen R. *Serum concentrations of adrenal steroids and their precursors as a measure of maturity of adrenocortical function in very premature newborns. Horm Res Paediatr* **74**, 358–364 (2010).
44. Miller WL. *Steroid hormone biosynthesis and actions in the materno-feto-placental unit. Clin Perinatol* **25**, 799–817 (1998).
45. Pasqualini JR. *Enzymes involved in the formation and transformation of steroid hormones in the fetal and placental compartments. J Steroid Biochem Mol Biol* **97**, 401–415 (2005).
46. Bolt RJ, Van Weissenbruch MM, Popp-Snijders C, Sweep FG, Lafeber HN, Delemarre-van de Waal HA. *Maturity of the adrenal cortex in very preterm infants is related to gestational age. Pediatr Res* **52**, 405–410 (2002).
47. Fernandez EF, Montman R, Watterberg KL. *ACTH and cortisol response to critical illness in term and late preterm newborns. J Perinatol* **28**, 797–802 (2008).
48. Masumoto K, Kusuda S, Aoyagi H, Tamura Y, Obonai T, Yamasaki C, Sakuma I, Uchiyama A, Nishida H, Oda S, Fukumura K, Tagawa N, Kobayashi Y. *Comparison*

- of serum cortisol concentrations in preterm infants with or without late-onset circulatory collapse due to adrenal insufficiency of prematurity. Pediatr Res* **63**, 686–690 (2008).
49. Chung HR. *Adrenal and thyroid function in the fetus and preterm infant. Korean J Pediatr* **57**, 425–433 (2014).
 50. Merke DP, Bornstein SR. *Congenital adrenal hyperplasia. Lancet* **365**, 2125–2136 (2005).
 51. Witchel SF, Azziz R. *Congenital adrenal hyperplasia. J Pediatr Adolesc Gynecol* **24**, 116–126 (2011).
 52. Antal Z, Zhou P. *Congenital adrenal hyperplasia: diagnosis, evaluation, and management. Pediatr Rev* **30**, e49–57 (2009).
 53. New MI. *Inborn errors of adrenal steroidogenesis. Mol Cell Endocrinol* **211**, 75–83 (2003).
 54. Asociación Española de Cribado Neonatal (AECNE). *Datos acumulados 2012*. [en línea]: <<http://aecne.es/pdf/datos2012.pdf>>
 55. van der Kamp HJ, Wit J. M. *Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. Eur J Endocrinol* **151 Suppl 3**, U71–5 (2004).
 56. Pang SY, Wallace MA, Hofman L, Thuline HC, Dorche C, Lyon IC, Dobbins RH, Kling S, Fujieda K, Suwa S. *Worldwide experience in newborn screening for classical congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. Pediatrics* **81**, 866–874 (1988).
 57. Chan CL, McFann K, Taylor L, Wright D, Zeitler PS, Barker JM. *Congenital adrenal hyperplasia and the second newborn screen. J Pediatr* **163**, 109–113 (2013).
 58. Gidlöf S, Falhammar H, Thilén A, von Döbeln U, Ritzén M, Wedell A, Nordenström A. *One hundred years of congenital adrenal hyperplasia in Sweden: a retrospective, population-based cohort study. Lancet Diabetes Endocrinol* **1**, 35–42 (2013).
 59. González EC, Carvajal F, Frómata A, Arteaga AL, Castells EM, Espinosa T, Coto R, Pérez PL, Tejada Y, Del Río L, Segura MT, Almenares P, Robaina R, Fernández JL. *Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in Cuba: six years of experience. Clin Chim Acta* **421**, 73–78 (2013).
 60. Barra CB, Silva IN, Pezzuti IL, Januario JN. *Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. Rev Assoc Med Bras* **58**, 459–464 (2012).
 61. Coulm B, Coste J, Tardy V, Ecosse E, Roussey M, Morel Y, Carel JC; DHCSF Study Group. *Efficiency of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency in children born in mainland France between 1996 and 2003. Arch Pediatr Adolesc Med* **166**, 113–120 (2012).
 62. Sarafoglou K, Bank K, Kylo J, Pittock S, Thomas W. *Cases of congenital adrenal hyperplasia missed by newborn screening in Minnesota. JAMA* **307**, 2371–2374 (2012).

63. Tajima T, Fujikura K, Fukushi M, Hotsubo T, Mitsuhashi Y. *Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia in Japan. *Pediatr Endocrinol Rev* 10 Suppl 1, 72–78 (2012).*
64. Votava F, Novotna D, Kracmar P, Vinohradska H, Stahlova-Hrabincova E, Vrzalova Z, Neumann D, Malikova J, Lebl J, Matern D. *Lessons learned from 5 years of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in the Czech Republic: 17-hydroxyprogesterone, genotypes, and screening performance. *Eur J Pediatr* 171, 935–940 (2012).*
65. Somboonnithiphol K, Panamonta O, Kiatchoosakun P, Jirapradittha J, Panamonta M, Lumbiganon P. *Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in Srinagarind Hospital, Khon Kaen University, Thailand. *Asian Biomed* 5, 855–859 (2011).*
66. Kaur G, Srivastav J, Jain S, Chawla D, Chavan BS, Atwal R, Randhawa G, Kaur A, Prasad R. *Preliminary report on neonatal screening for congenital hypothyroidism, congenital adrenal hyperplasia and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a Chandigarh experience. *Indian J Pediatr* 77, 969–973 (2010).*
67. Loukas YL, Soumelas GS, Dotsikas Y, Georgiou V, Molou E, Thodi G, Boutsini M, Biti S, Papadopoulos K. *Expanded newborn screening in Greece: 30 months of experience. *J Inherit Metab Dis* 33 Suppl 3, S341–8 (2010).*
68. Grunheiro-Papendieck L, Chiesa A, Mendez V, Prieto L. *Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia: experience and results in Argentina. *J Pediatr Endocrinol Metab* 21, 73–78 (2008).*
69. Gleeson HK, Wiley V, Wilcken B, Elliott E, Cowell C, Thonsett M, Byrne G, Ambler G. *Two-year pilot study of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in New South Wales compared with nationwide case surveillance in Australia. *J Paediatr Child Health* 44, 554–559 (2008).*
70. Cardoso CBMA, Fonseca AA, Oliveira MdeFS, Pereira BB, Guimaraes MM. [Congenital adrenal hyperplasia newborn screening: Rio de Janeiro experience]. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 49, 112–119 (2005).
71. Cavarzere P, Camilot M, Teofoli F, Tato L. *Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia in North-Eastern Italy: a report three years into the program. *Horm Res* 63, 180–186 (2005).*
72. Varness TS, Allen DB, & Hoffman GL. *Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia has reduced sensitivity in girls. *J Pediatr* 147, 493–498 (2005).*
73. Gessl A, Lemmens-Gruber R, Kautzky-Willer A. *Adrenal disorders. *Handb Exp Pharmacol* 341–359 (2012).*
74. Shaw AM. *21-hydroxylase deficiency congenital adrenal hyperplasia. *Neonatal Netw* 29, 191–196 (2010).*
75. Trakakis E, Basios G, Trompoukis P, Labos G, Grammatikakis I, Kassanos D. *An update to 21-hydroxylase deficient congenital adrenal hyperplasia. *Gynecol Endocrinol* 26, 63–71 (2010).*

76. Basiak A, Wikiera B, Noczynska A. [Salt wasting syndrome caused by congenital, insufficient synthesis or aldosterone function - etiology, diagnosis and management]. *Endokrynol Diabetol Chor Przemiany Materii Wieku Rozw* **11**, 103–108 (2005).
77. Emans SJ, Laufer MR, Goldstein DP. *Endocrine abnormalities associated with hirsutism*. En: *Pediatric and Adolescent Gynecology*. 4^a ed. Filadelfia: Lippincott-Raven, 1998; 263–301.
78. Monticone S, Auchus RJ, Rainey WE. *Adrenal disorders in pregnancy*. *Nat Rev Endocrinol* **8**, 668–678 (2012).
79. Jehaimi CT, Araiza VC, Batish SD, Brosnan PG. *Polycystic ovaries and adrenal insufficiency in a young pubescent female with lipoid congenital adrenal hyperplasia due to splice mutation of the StAR gene: a case report and review of the literature*. *J Pediatr Endocrinol Metab* **23**, 1225–1231 (2010).
80. Ezquieta B, Oyarzabal M, Barrio R, Luzuriaga C, Hermoso F, Lechuga JL, Quinteiro S, Rodríguez A, Labarta JI, Gutierrez Macias A, Gallego M, Bellón JM. *Monogenic and polygenic models detected in steroid 21-hydroxylase deficiency-related paediatric hyperandrogenism*. *Horm Res* **71**, 28–37 (2009).
81. Asby DJ, Arlt W, Hanley NA. *The adrenal cortex and sexual differentiation during early human development*. *Rev Endocr Metab Disord* **10**, 43–49 (2009).
82. Saenger P. *Ambiguous genitalia*. En: *Saunders manual of Pediatric Practice*. Filadelfia: Ed WB Saunders Co, 1998; 751–754.
83. Holm IA. *Ambiguous genitalia in the newborn*. En: *Pediatric and Adolescent Gynecology*. 4^a ed. Filadelfia: Lippincott-Raven, 1998; 43–73.
84. Prader A. *Der Genitalbefund beim Pseudohermaphroditismus femininus des kongenitalen adrenogenitalen Syndroms*. *Helv Paediatr Acta* 231–248 (1954).
85. Sanfilippo JS. *Congenital adrenal hyperplasia and ambiguous genitalia*. *J Pediatr Adolesc Gynecol* **24**, 235 (2011).
86. Balsamo A, Baldazzi L, Menabo S, Cicognani A. *Impact of molecular genetics on congenital adrenal hyperplasia management*. *Sex Dev* **4**, 233–248 (2010).
87. Miller WL. *Other congenital adrenal hyperplasias*. En: *Saunders manual of Pediatric Practice*. Filadelfia: Ed WB Saunders Co, 1998; 798–803.
88. Ferrari P. *Genetics of the mineralocorticoid system in primary hypertension*. *Curr Hypertens Rep* **4**, 18–24 (2002).
89. Bachelot A, Chakthoura Z, Rouxel A, Dulon J, Touraine P. *Classical forms of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency in adults*. *Horm Res* **69**, 203–211 (2008).
90. Falhammar H, Thoren M. *Clinical outcomes in the management of congenital adrenal hyperplasia*. *Endocrine* **41**, 355–373 (2012).
91. Jost A. *Hormonal factors in the sex differentiation of the mammalian foetus*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **259**, 119–130 (1970).

92. Corsello SM, Di Donna V, Senes P, Luotto V, Ricciato MP, Paragliola RM, Pontecorvi A. *Biological aspects of gender disorders*. *Minerva Endocrinol* **36**, 325–339 (2011).
93. White PC, Bachega TASS. *Congenital adrenal hyperplasia due to 21 hydroxylase deficiency: from birth to adulthood*. *Semin Reprod Med* **30**, 400–409 (2012).
94. Witchel, S. F. *Non-classic congenital adrenal hyperplasia*. *Steroids* **78**, 747–750 (2013).
95. Pignatelli D. *Non-classic adrenal hyperplasia due to the deficiency of 21-hydroxylase and its relation to polycystic ovarian syndrome*. *Front Horm Res* **40**, 158–170 (2013).
96. Speiser PW. *Nonclassic adrenal hyperplasia*. *Rev Endocr Metab Disord* **10**, 77–82 (2009).
97. Nimkarn S, New MI. *Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency: A paradigm for prenatal diagnosis and treatment*. *Ann N Y Acad Sci* **1192**, 5–11 (2010).
98. Sharma R, Seth A. *Congenital adrenal hyperplasia: issues in diagnosis and treatment in children*. *Indian J Pediatr* **81**, 178–185 (2014).
99. Auchus, R. J. *The Classic and Nonclassic Congenital Adrenal Hyperplasias*. *Endocr Pract* 1–25 (2014).
100. Cheng TQ, Speiser PW. *Treatment outcomes in congenital adrenal hyperplasia*. *Adv Pediatr* **59**, 269–281 (2012).
101. Stewart S. *Treating congenital adrenal hyperplasia*. *Nurs Times* **109**, 23 (2013).
102. Merke DP, Poppas DP. *Management of adolescents with congenital adrenal hyperplasia*. *Lancet Diabetes Endocrinol* **1**, 341–352 (2013).
103. Ajish TP, Praveen VP, Nisha B, Kumar H. *Comparison of different glucocorticoid regimens in the management of classical congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency*. *Indian J Endocrinol Metab* **18**, 815–820 (2014).
104. van der Kaay D, van den Akker E. *Ultralow-dose Dexamethasone to Preserve Endogenous Cortisol Stress Response in Nonclassical Congenital Adrenal Hyperplasia: A New Promising Treatment*. *Int J Endocrinol Metab* **12**, e14657 (2014).
105. Holmes-Walker DJ, Conway GS, Honour JW, Rumsby G, Jacobs HS. *Menstrual disturbance and hypersecretion of progesterone in women with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency*. *Clin Endocrinol (Oxf)* **43**, 291–296 (1995).
106. Zhang L, Wang HN, Hong TP. *[Diagnosis and treatment of 17 alpha-hydroxylase deficiency: a case report and literature review]*. *Beijing Da Xue Xue Bao* **40**, 221–222 (2008).
107. Marumudi E, Khadgawat R, Surana V, Shabir I, Joseph A, Ammini AC. *Diagnosis and management of classical congenital adrenal hyperplasia*. *Steroids* **78**, 741–

- 746 (2013).
108. Gomes LG, Madureira G, Mendonca BB, Bachega, TASS. *Mineralocorticoid replacement during infancy for salt wasting congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. Clinics (Sao Paulo)* **68**, 147–152 (2013).
 109. Hassan-Smith Z, Stewart PM. *Inherited forms of mineralocorticoid hypertension. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* **18**, 177–185 (2011).
 110. Forest MG. *Recent advances in the diagnosis and management of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. Hum Reprod Update* **10**, 469–485 (2004).
 111. Ahmed SF, Rodie M. *Investigation and initial management of ambiguous genitalia. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* **24**, 197–218 (2010).
 112. Witchel SF, Miller WL. *Prenatal treatment of congenital adrenal hyperplasia-not standard of care. J Genet Couns* **21**, 615–624 (2012).
 113. New MI, Abraham M, Yuen T, Lekarev O. *An update on prenatal diagnosis and treatment of congenital adrenal hyperplasia. Semin Reprod Med* **30**, 396–399 (2012).
 114. Uçar A, Saka N, Baş F, Poyrazoğlu S, Bundak R, Darendeliler F. *Sequential use of hydrocortisone and dexamethasone in prenatal treatment of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. Horm Res Paediatr* **79**, 323–324 (2013).
 115. Claahsen-van der Grinten HL, Stikkelbroeck NMML, Otten BJ, Hermus ARMM. *Congenital adrenal hyperplasia pharmacologic interventions from the prenatal phase to adulthood. Pharmacol Ther* **132**, 1–14 (2011).
 116. Malunowicz EM, Romer TE, Urban M, Bossowski A. *11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 deficiency (apparent cortisone reductase deficiency) in a 6-year-old boy. Horm Res* **59**, 205–210 (2003).
 117. Miller WL. *Steroid hormone synthesis in mitochondria. Mol Cell Endocrinol* **379**, 62–73 (2013).
 118. Taymans SE, Pack S, Pak E, Torpy DJ, Zhuang Z, Stratakis CA. *Human CYP11B2 (aldosterone synthase) maps to chromosome 8q24.3. J Clin Endocrinol Metab* **83**, 1033–1036 (1998).
 119. White PC. *Congenital adrenal hyperplasia owing to 11beta-hydroxylase deficiency. Adv Exp Med Biol* **707**, 7–8 (2011).
 120. Melcescu E, Phillips J, Moll G, Subauste JS, Koch CA. *11Beta-hydroxylase deficiency and other syndromes of mineralocorticoid excess as a rare cause of endocrine hypertension. Horm Metab Res* **44**, 867–878 (2012).
 121. New MI, Wilson RC. *Steroid disorders in children: congenital adrenal hyperplasia and apparent mineralocorticoid excess. Proc Natl Acad Sci U S A* **96**, 12790–12797 (1999).
 122. Cerame BI, New MI. *Hormonal hypertension in children: 11beta-hydroxylase*

- deficiency and apparent mineralocorticoid excess. *J Pediatr Endocrinol Metab* **13**, 1537–1547 (2000).
123. Parajes S, Loidi L, Reisch N, Dhir V, Rose IT, Hampel R, Quinkler M, Conway GS, Castro-Feijóo L, Araujo-Vilar D, Pombo M, Dominguez F, Williams EL, Cole TR, Kirk JM, Kaminsky E, Rumsby G, Arlt W, Krone N. *Functional consequences of seven novel mutations in the CYP11B1 gene: four mutations associated with nonclassic and three mutations causing classic 11 β -hydroxylase deficiency. J Clin Endocrinol Metab* **95**, 779–788 (2010).
124. Joehrer K, Geley S, Strasser-Wozak EM, Azziz R, Wollmann HA, Schmitt K, Kofler R, White PC. *CYP11B1 mutations causing non-classic adrenal hyperplasia due to 11 beta-hydroxylase deficiency. Hum Mol Genet* **6**, 1829–1834 (1997).
125. Reisch N, Högler W, Parajes S, Rose IT, Dhir V, Götzinger J, Arlt W, Krone N. *A diagnosis not to be missed: nonclassic steroid 11 β -hydroxylase deficiency presenting with premature adrenarche and hirsutism. J Clin Endocrinol Metab* **98**, E1620–5 (2013).
126. Lashansky G, Saenger P, Fishman K, Gautier T, Mayes D, Berg G, Di Martino-Nardi J, Reiter E. *Normative data for adrenal steroidogenesis in a healthy pediatric population: age- and sex-related changes after adrenocorticotropin stimulation. J Clin Endocrinol Metab* **73**, 674–686 (1991).
127. Mathur R, Kabra M, Menon PS. *Diagnosis and management of congenital adrenal hyperplasia: clinical, molecular and prenatal aspects. Natl Med J India* **14**, 26–31 (2001).
128. Nimkarn S, New MI. *Steroid 11 β -hydroxylase deficiency congenital adrenal hyperplasia. Trends Endocrinol Metab* **19**, 96–99 (2008).
129. Migeon CJ. *Over 50 years of progress in the treatment of the hypertensive form of congenital adrenal hyperplasia due to steroid 11- β -hydroxylase deficiency. Commentary on Simm PJ and Zacharin MR: Successful pregnancy in a patient with severe 11- β -hydroxylase deficiency and novel mutations in CYP11B1 gene (Horm Res 2007;68:294-297). Horm Res* **68**, 298–299 (2007).
130. Pang S. *The molecular and clinical spectrum of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase deficiency disorder. Trends Endocrinol Metab* **9**, 82–86 (1998).
131. Pang S. *Congenital adrenal hyperplasia owing to 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase deficiency. Endocrinol Metab Clin North Am* **30**, 81–99– vi–vii (2001).
132. Simard J, Moisan AM, Morel Y. *Congenital adrenal hyperplasia due to 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/ Δ (5)- Δ (4) isomerase deficiency. Semin Reprod Med* **20**, 255–276 (2002).
133. Rasmussen MK, Ekstrand B, Zamaratskaia G. *Regulation of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/ Δ (5)- Δ (4) isomerase: a review. Int J Mol Sci* **14**, 17926–17942 (2013).
134. Marui S, Castro M, Latronico AC, Elias LL, Arnhold IJ, Moreira AC, Mendonca BB.

- Mutations in the type II 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase (HSD3B2) gene can cause premature pubarche in girls. Clin Endocrinol (Oxf)* **52**, 67–75 (2000).
135. Pang S, Levine LS, Stoner E, Opitz JM, Pollack MS, Dupont B, New MI. *Nonsalt-losing congenital adrenal hyperplasia due to 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase deficiency with normal glomerulosa function. J Clin Endocrinol Metab* **56**, 808–818 (1983).
 136. Azziz R, Bradley ELJ, Potter HD, Boots L. R. *3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase deficiency in hyperandrogenism. Am J Obstet Gynecol* **168**, 889–895 (1993).
 137. Collett-Solberg PF. *Congenital adrenal hyperplasia: from genetics and biochemistry to clinical practice, Part 1. Clin Pediatr (Phila)* **40**, 1–16 (2001).
 138. Nordenstrom A, Forest MG, Wedell A. *A case of 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase type II (HSD3B2) deficiency picked up by neonatal screening for 21-hydroxylase deficiency: difficulties and delay in etiologic diagnosis. Horm Res* **68**, 204–208 (2007).
 139. Johannsen TH, Mallet D, Dige-Petersen H, Müller J, Main KM, Morel Y, Forest MG. *Delayed diagnosis of congenital adrenal hyperplasia with salt wasting due to type II 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase deficiency. J Clin Endocrinol Metab* **90**, 2076–2080 (2005).
 140. Pang S, Carbutaru G, Haider A, Copeland KC, Chang YT, Lutfallah C, Mason JI. *Carriers for type II 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase (HSD3B2) deficiency can only be identified by HSD3B2 genotype study and not by hormone test. Clin Endocrinol (Oxf)* **58**, 323–331 (2003).
 141. Auchus RJ, Miller WL. *Molecular modeling of human P450c17 (17alpha-hydroxylase/17,20-lyase): insights into reaction mechanisms and effects of mutations. Mol Endocrinol* **13**, 1169–1182 (1999).
 142. Miller WL, Auchus RJ, Geller DH. *The regulation of 17,20 lyase activity. Steroids* **62**, 133–142 (1997).
 143. Matteson KJ, Picado-Leonard J, Chung BC, Mohandas TK, Miller WL. *Assignment of the gene for adrenal P450c17 (steroid 17 alpha-hydroxylase/17,20 lyase) to human chromosome 10. J Clin Endocrinol Metab* **63**, 789–791 (1986).
 144. Mula-Abed WA, Pambinezhuth FB, Al-Kindi MK, Al-Busaidi NB, Al-Muslahi HN, Al-Lamki MA. *Congenital Adrenal Hyperplasia due to 17-alpha-hydroxylase/17,20-lyase Deficiency Presenting with Hypertension and Pseudohermaphroditism: First Case Report from Oman. Oman Med J* **29**, 55–59 (2014).
 145. Winter JS, Couch RM, Muller J, Perry YS, Ferreira P, Baydala L, Shackleton CH. *Combined 17-hydroxylase and 17,20-desmolase deficiencies: evidence for synthesis of a defective cytochrome P450c17. J Clin Endocrinol Metab* **68**, 309–316 (1989).
 146. Kim YM, Kang M, Choi JH, Lee BH, Kim GH, Ohn JH, Kim SY, Park MS, Yoo HW. *A review of the literature on common CYP17A1 mutations in adults with 17-hydroxylase/17,20-lyase deficiency, a case series of such mutations among*

- Koreans and functional characteristics of a novel mutation. Metabolism* **63**, 42–49 (2014).
147. Rosa S, Steigert M, Lang-Muritano M, l'Allemand D, Schoenle EJ, Biason-Lauber A. *Clinical, genetic and functional characteristics of three novel CYP17A1 mutations causing combined 17alpha-hydroxylase/17,20-lyase deficiency. Horm Res Paediatr* **73**, 198–204 (2010).
148. Rosa S, Duff C, Meyer M, Lang-Muritano M, Balercia G, Boscaro M, Topaloglu AK, Mioni R, Fallo F, Zuliani L, Mantero F, Schoenle EJ, Biason-Lauber A. *P450c17 deficiency: clinical and molecular characterization of six patients. J Clin Endocrinol Metab* **92**, 1000–1007 (2007).
149. Wang YP, Zhao YJ, Zhou GY, He B. *CYP17A1 gene mutations and hypertension variations found in 46, XY females with combined 17alpha-hydroxylase/17, 20-lyase deficiency. Gynecol Endocrinol* **30**, 456–460 (2014).
150. Morris DJ, Latif SA, Brem AS. *An alternative explanation of hypertension associated with 17alpha-hydroxylase deficiency syndrome. Steroids* **79**, 44–48 (2014).
151. Marsh CA, Auchus RJ. *Fertility in patients with genetic deficiencies of cytochrome P450c17 (CYP17A1): combined 17-hydroxylase/17,20-lyase deficiency and isolated 17,20-lyase deficiency. Fertil Steril* **101**, 317–322 (2014).
152. Croxson M, Ogilvie CM, Milsom S, Lewis J, Davidson J, Rumsby G. *Delayed puberty from partial 17-alpha hydroxylase enzyme deficiency. N Z Med J* **125**, 71–74 (2012).
153. Oh YK, Ryoo U, Kim D, Cho SY, Jin DK, Yoon BK, Lee DY, Choi D. *17alpha-hydroxylase/17, 20-lyase deficiency in three siblings with primary amenorrhea and absence of secondary sexual development. J Pediatr Adolesc Gynecol* **25**, e103–5 (2012).
154. Miller WL. *The syndrome of 17,20 lyase deficiency. J Clin Endocrinol Metab* **97**, 59–67 (2012).
155. Neres MS, Auchus RJ, Shackleton CHL, Kater CE. *Distinctive profile of the 17-hydroxylase and 17,20-lyase activities revealed by urinary steroid metabolomes of patients with CYP17 deficiency. Arq Bras Endocrinol Metabol* **54**, 826–832 (2010).
156. Miller WL. *StAR search- what we know about how the steroidogenic acute regulatory protein mediates mitochondrial cholesterol import. Mol Endocrinol* **21**, 589–601 (2007).
157. Hashemipou, M, Ghasemi M, Hovsepian S. *A case of congenital lipoid adrenal hyperplasia. Int J Prev Med* **3**, 510–514 (2012).
158. King SR, Bhangoo A, Stocco DM. *Functional and physiological consequences of StAR deficiency: role in lipoid congenital adrenal hyperplasia. Endocr Dev* **20**, 47–53 (2011).
159. Sahakitrungruang T, Soccio RE, Lang-Muritano M, Walker JM, Achermann JC, Miller WL. *Clinical, genetic, and functional characterization of four patients*

- carrying partial loss-of-function mutations in the steroidogenic acute regulatory protein (StAR). J Clin Endocrinol Metab* **95**, 3352–3359 (2010).
160. Bose HS, Sato S, Aisenberg J, Shalev SA, Matsuo N, Miller WL. *Mutations in the steroidogenic acute regulatory protein (StAR) in six patients with congenital lipoid adrenal hyperplasia. J Clin Endocrinol Metab* **85**, 3636–3639 (2000).
 161. Khoury K, Ducharme L, LeHoux JG. *Family of two patients with congenital lipoid adrenal hyperplasia due to StAR mutation. Endocr Res* **30**, 925–929 (2004).
 162. Bhangoo A, Anhalt H, Ten S, King SR. *Phenotypic variations in lipoid congenital adrenal hyperplasia. Pediatr Endocrinol Rev* **3**, 258–271 (2006).
 163. Jin HY, Choi JH, Lee BH, Kim GH, Kim HK, Yoo HW. *Ovarian cyst torsion in a patient with congenital lipoid adrenal hyperplasia. Eur J Pediatr* **170**, 535–538 (2011).
 164. Williams RM, Ong KK, Dunger DB. *Polycystic ovarian syndrome during puberty and adolescence. Mol Cell Endocrinol* **373**, 61–67 (2013).
 165. Baker BY, Lin L, Kim CJ, Raza J, Smith CP, Miller WL, Achermann JC. *Nonclassic congenital lipoid adrenal hyperplasia: a new disorder of the steroidogenic acute regulatory protein with very late presentation and normal male genitalia. J Clin Endocrinol Metab* **91**, 4781–4785 (2006).
 166. Tajima T, Fujieda K, Kouda N, Nakae J, Miller WL. *Heterozygous mutation in the cholesterol side chain cleavage enzyme (p450scc) gene in a patient with 46,XY sex reversal and adrenal insufficiency. J Clin Endocrinol Metab* **86**, 3820–3825 (2001).
 167. Kim SO, Choi C, Kim CJ, Kim JS, Kwon D, Kang TW, Park K, Ryu SB, Jung SI, Oh KJ, Im CM. *Lipoid congenital adrenal hyperplasia: pathologic features of the testis. Urology* **75**, 176–178 (2010).
 168. Shanklin DR, Smalley DL, Handorf CR. *Neonatal adrenal failure due to congenital lipoid hyperplasia of cortex. Tenn Med* **97**, 39–40 (2004).
 169. Cerdá Mota T. *Programas de cribado: Características y condiciones para su puesta en marcha. Programa de Formación Médica Continuada Acreditado* **8**, 6312–6317 (2003).
 170. Salleras L, Domínguez A, Forés MD. *Los métodos de la medicina clínica preventiva (y III). Cribados. Medicina clínica* **102**, 26–26 (1994).
 171. Gray M, Fowler GH. *Preventive medicine in general practice*. Oxford: Ed. Oxford University Press, 1983.
 172. Fletcher RH, Fletcher SW, Wagner EH. *Clinical epidemiology, the essentials*. 4ª ed. Baltimore: Ed. Wolters, Kluwer, Lippincott, Williams & Wilkins, 2005
 173. Kramer MS. *Clinical epidemiology and biostatistics: A Primer for Clinical Investigators and Decision-Makers*. Berlin: Ed. Springer-Verlag, 1988.
 174. Autti-Rämö I, Mäkelä M, Sintonen H, Koskinen H, Laajalahti L, Halila R, Kääriäinen H, Lapatto R, Näntö-Salonen K, Pulkki K, Renlund M, Salo M, Tyni T. *Expanding screening for rare metabolic disease in the newborn: an analysis of costs, effect and ethical consequences for decision-making in Finland. Acta Paediatr* **94**, 1126–

- 1136 (2005).
175. Wilcken B. *Screening for disease in the newborn: the evidence base for blood-spot screening*. *Pathology* **44**, 73–79 (2012).
176. Wilson JM G, & Jungner YG. *Principles and practice of screening for disease*. *Public Health Papers* 34. Genova: World Health Organization, 1968.
177. Committee, U. N. S. *UK National Screening Committee. Criteria for appraising the viability, effectiveness and appropriateness of screening programme*.
178. Sahai I, Marsden D. *Newborn screening*. *Crit Rev Clin Lab Sci* **46**, 55–82 (2009).
179. Artero AU, del Moral CR. *Screening neonatal*. *Bol Pediatr* **46**, 141-144 (2006).
180. Dulín-Iñiguez E, Espada M, Eguileor-Gurtubai I. *Programas de cribado neonatal*. *An Pediatr Contin* **4**, 61–65 (2006).
181. Eddy M, Gottesman GS. *Newborn metabolic screening and related pitfalls*. *Mo Med* **106**, 234–240 (2009).
182. Pollitt RJ. *Introducing new screens: Why are we all doing different things?* *J Inherit Metab Dis* **30**, 423–429 (2007).
183. Webster D. *Quality performance of newborn screening systems: Strategies for improvement*. *J Inherit Metab Dis* **30**, 576–584 (2007).
184. Cocho de Juan JA, Castiñeiras Ramos DE, Fraga Bermudez JM. *Cribado de metabolopatías*. En: *Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias*. 2ª ed. Madrid: Ergon, 2006; 47–61.
185. Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ, Booth A, Cooper NJ, Leonard JV, Nicholl J, Nicholson P, Tunaley JR, Virdi NK. *Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome*. *Health Technol Assess* **1**, i–iv– 1–202 (1997).
186. *Newborn screening: toward a uniform screening panel and system - executive summary*. *Pediatrics* **117**, S296–307 (2006).
187. Sackett DL, Haynes RB, Guyatt GH, Tugwell P. *Diagnóstico precoz*. En: *Epidemiología clínica. Ciencia básica para la medicina clínica*. 2ª ed. Buenos Aires: Panamericana, 1994; 158–175.
188. Therrell BL. *Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia*. *Endocrinol Metab Clin North Am* **30**, 15–30 (2001).
189. Gonzalez RR, Maentausta O, Solyom J, Vihko R. *Direct solid-phase time-resolved fluoroimmunoassay of 17 alpha-hydroxyprogesterone in serum and dried blood spots on filter paper*. *Clin Chem* **36**, 1667–1672 (1990).
190. Singh RJ. *Quantitation of 17-OH-progesterone (OHPG) for diagnosis of congenital adrenal hyperplasia (CAH)*. *Methods Mol Biol* **603**, 271–277 (2010).
191. Honour JW. *17-Hydroxyprogesterone in children, adolescents and adults*. *Ann Clin Biochem* **51**, 424–440 (2014).
192. Pang S, Hotchkiss J, Drash AL, Levine LS, New MI. *Microfilter paper method for 17 alpha-hydroxyprogesterone radioimmunoassay: its application for rapid screening*

- for congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* **45**, 1003–1008 (1977).
193. White PC. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. *Nat Rev Endocrinol* **5**, 490–498 (2009).
 194. Labarta JI, Bello E, Ruiz-Echarri M, Rueda C, Martul P, Mayayo E, Ferrández Longás A. Estado en la edad adulta y propuesta de optimización terapéutica de la hiperplasia suprarrenal congénita. *An Esp Pediatr* **2**, 12–24 (2003).
 195. Honour JW, Torresani T. Evaluation of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. *Horm Res* **55**, 206–211 (2001).
 196. Pang S. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. *Pediatr Ann* **32**, 516–523 (2003).
 197. Berry J, Betts P, Wood PJ. The interpretation of bloodspot 17 alpha-hydroxyprogesterone levels in term and pre-term neonates. *Ann Clin Biochem* **23 (Pt 5)**, 546–551 (1986).
 198. Ng PC, Lee CH, Lam CW, Ma KC, Chan IH, Wong E, Fok TF. Early pituitary-adrenal response and respiratory outcomes in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* **89**, F127–30 (2004).
 199. Nordenstrom A, Wedell A, Hagenfeldt L, Marcus C, Larsson A. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia: 17-hydroxyprogesterone levels and CYP21 genotypes in preterm infants. *Pediatrics* **108**, E68 (2001).
 200. Chennuri VS, Mithbawkar SM, Mokal RA, Desai MP. Serum 17 alpha hydroxyprogesterone in normal full term and preterm vs sick preterm and full term newborns in a tertiary hospital. *Indian J Pediatr* **80**, 21–25 (2013).
 201. Fingerhut R. False positive rate in newborn screening for congenital adrenal hyperplasia (CAH)-ether extraction reveals two distinct reasons for elevated 17alpha-hydroxyprogesterone (17-OHP) values. *Steroids* **74**, 662–665 (2009).
 202. van der Kamp HJ, Oudshoorn CG, Elvers BH, van Baarle M, Otten BJ, Wit JM, Verkerk PH. Cutoff levels of 17-alpha-hydroxyprogesterone in neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia should be based on gestational age rather than on birth weight. *J Clin Endocrinol Metab* **90**, 3904–3907 (2005).
 203. al-Nuaim AR, Abdullah MA, Stevens B, Zain M. Effect of gender, birth weight and gestational age on serum 17-hydroxyprogesterone concentration and distribution among neonates in Saudi Arabia. *Indian J Pediatr* **62**, 605–609 (1995).
 204. Effect of corticosteroids for fetal maturation on perinatal outcomes. NIH Consensus Development Panel on the Effect of Corticosteroids for Fetal Maturation on Perinatal Outcomes. *JAMA* **273**, 413–418 (1995).
 205. Schmid M, Kasprian G, Kuessel L, Messerschmidt A, Brugger PC, Prayer D. Effect of antenatal corticosteroid treatment on the fetal lung: a magnetic resonance imaging study. *Ultrasound Obstet Gynecol* **38**, 94–98 (2011).
 206. Onland W, de Laat MW, Mol BW, Offringa M. Effects of antenatal corticosteroids given prior to 26 weeks' gestation: a systematic review of randomized controlled trials. *Am J Perinatol* **28**, 33–44 (2011).

207. Gatelais F, Berthelot J, Beringue F, Descamps P, Bonneau D, Limal JM, Coutant R. *Effect of Single and Multiple Courses of Prenatal Corticosteroids on 17-Hydroxyprogesterone Levels: Implication for Neonatal Screening of Congenital Adrenal Hyperplasia. Pediatr Res* **56**, 701–705 (2004).
208. Braun T, Li S, Sloboda DM, Li W, Audette MC, Moss TJ, Matthews SG, Polglase G, Nitsos I, Newnham JP, Challis JR. *Effects of maternal dexamethasone treatment in early pregnancy on pituitary-adrenal axis in fetal sheep. Endocrinology* **150**, 5466–5477 (2009).
209. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline. NCCLS Document C28-A2. 20*, (2000).
210. Lahti A, Hyltoft Petersen P, Boy, JC, Fraser CG, Jorgensen, N. *Objective criteria for partitioning Gaussian-distributed reference values into subgroups. Clin Chem* **48**, 338–352 (2002).
211. Working Group on Neonatal Screening of the European Society for Paediatric Endocrinology. *Procedure for neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. Horm Res* **55**, 201–205 (2001).
212. Brosnan PG, Brosnan CA, Kemp SF, Domek DB, Jelley DH, Blackett PR, Riley WJ. *Effect of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. Arch Pediatr Adolesc Med* **153**, 1272–1278 (1999).
213. Olgemoller, B., Roscher, A. A., Liebl, B. & Fingerhut, R. *Screening for congenital adrenal hyperplasia: adjustment of 17-hydroxyprogesterone cut-off values to both age and birth weight markedly improves the predictive value. J Clin Endocrinol Metab* **88**, 5790–5794 (2003).
214. Therrell BL Jr, Berenbaum SA, Manter-Kapanke V, Simmank J, Korman K, Prentice L, Gonzalez J, Gunn S. *Results of screening 1.9 million Texas newborns for 21-hydroxylase-deficient congenital adrenal hyperplasia. Pediatrics* **101**, 583–590 (1998).
215. Balsamo A, Cacciari E, Piazzì S, Cassio A, Bozza D, Pirazzoli P, Zappulla F. *Congenital adrenal hyperplasia: neonatal mass screening compared with clinical diagnosis only in the Emilia-Romagna region of Italy, 1980-1995. Pediatrics* **98**, 362–367 (1996).
216. Thilen A, Larsson A. *Congenital adrenal hyperplasia in Sweden 1969-1986. Prevalence, symptoms and age at diagnosis. Acta Paediatr Scand* **79**, 168–175 (1990).
217. Thilen A, Nordenström A, Hagenfeldt L, von Döbeln U, Guthenberg C, Larsson A. *Benefits of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia (21-hydroxylase deficiency) in Sweden. Pediatrics* **101**, E11 (1998).
218. Morikawa S, Nakamura A, Fujikura K, Fukushi M, Hotsubo T, Miyata J, Ishizu K, Tajima T. *Results from 28 years of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in sapporo. Clin Pediatr Endocrinol* **23**, 35–43 (2014).

219. Heather NL, Seneviratne SN, Webster D, Derraik JG, Jefferies C, Carll J, Jiang Y, Cutfield WS, Hofman PL. *Newborn Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia in New Zealand, 1994–2013. The J Clin Endocrinol Metab* **100**, 1002–1008 (2015).
220. Shetty VB, Bowe, C, Jones TW, Lewis BD, Davis EA. *Ethnic and gender differences in rates of congenital adrenal hyperplasia in Western Australia over a 21 year period. J Paediatr Child Health* **48**, 1029–1032 (2012).
221. Hird BE, Tetlow L, Tobi S, Patel L, Clayton PE. *No evidence of an increase in early infant mortality from congenital adrenal hyperplasia in the absence of screening. Arch Dis Child* **99**, 158–164 (2014).
222. Van der Kamp HJ, Noordam K, Elvers B, Van Baarle M, Otten BJ, Verkerk PH. *Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in the Netherlands. Pediatrics* **108**, 1320–1324 (2001).
223. Lee JE, Moon Y, Lee MH, Jun YH, Oh KI, Choi JW. *Corrected 17-alpha-hydroxyprogesterone values adjusted by a scoring system for screening congenital adrenal hyperplasia in premature infants. Ann Clin Lab Sci* **38**, 235–240 (2008).
224. Bolt RJ. *Maturity of the Adrenal Cortex in Very Preterm Infants Is Related to Gestational Age. Pediatr Res* **52**, 405–410 (2002).
225. Pau DA, Mackley A, Bartoszesky L. *Newborn screening levels of 17-hydroxyprogesterone in very low birth weight infants and the relationship to chronic lung disease. J Pediatr Endocrinol Metab* **19**, 1119–1124 (2006).
226. Slaughter JL, Meinzen-Derr J, Rose SR, Leslie ND, Chandrasekar R, Linard SM, Akinbi HT. *The effects of gestational age and birth weight on false-positive newborn-screening rates. Pediatrics* **126**, 910–916 (2010).
227. Gidlof S, Wedell A, Guthenberg C, Dobeln von U, Nordenstrom A. *Nationwide neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia in sweden: a 26-year longitudinal prospective population-based study. JAMA Pediatr* **168**, 567–574 (2014).
228. Sarafoglou K, Gaviglio A, Hietala A, Frogner G, Banks K, McCann M, Thomas W. *Comparison of newborn screening protocols for congenital adrenal hyperplasia in preterm infants. J Pediatr* **164**, 1136–1140 (2014).
229. Janzen N, Peter M, Sander S, Steuerwald U, Terhardt M, Holtkamp U, Sander J. *Newborn Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia: Additional Steroid Profile using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. The J Clin Endocrinol Metab* **92**, 2581–2589 (2007).
230. Kosel S. *Rapid Second-Tier Molecular Genetic Analysis for Congenital Adrenal Hyperplasia Attributable to Steroid 21-Hydroxylase Deficiency. Clin Chem* **51**, 298–304 (2005).
231. Pezzuti IL, Barra CB, Mantovani RM, Januario JN, Silva IN. *A three-year follow-up of congenital adrenal hyperplasia newborn screening. J Pediatr (Rio J)* **90**, 300–307 (2014).
232. Sarafoglou K, Banks K, Gaviglio A, Hietala A, McCann M, Thomas W. *Comparison*

- of one-tier and two-tier newborn screening metrics for congenital adrenal hyperplasia. Pediatrics* **130**, e1261–8 (2012).
233. Silveira EL, dos Santos EP, Bachega TA, van der Linden Nader I, Gross JL, Elnecave RH. *The actual incidence of congenital adrenal hyperplasia in Brazil may not be as high as inferred--an estimate based on a public neonatal screening program in the state of Goias. J Pediatr Endocrinol Metab* **21**, 455–460 (2008).
234. White PC. *Optimizing newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. J Pediatr* **163**, 10–12 (2013).
235. Schreiner F, Brack C, Salzgeber K, Vorhoff W, Woelfle J, Gohlke B. *False negative 17-hydroxyprogesterone screening in children with classical congenital adrenal hyperplasia. Eur J Pediatr* **167**, 479–481 (2008).
236. Votava F. *Estimation of the false-negative rate in newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. Eur J Endocrinol* **152**, 869–874 (2005).
237. Gudmundsson K, Majzoub JA, Bradwin G, Mandel S, Rifai N. *Virilising 21-hydroxylase deficiency: timing of newborn screening and confirmatory tests can be crucial. J Pediatr Endocrinol Metab* **12**, 895–901 (1999).
238. Woelfle J, Hoepffner W, Sippell WG, Brämsswig JH, Heidemann P, Deiss D, Bökenkamp A, Roth C, Irle U, Wollmann HA, Zachmann M, Kubini K, Albers N. *Complete virilization in congenital adrenal hyperplasia: clinical course, medical management and disease-related complications. Clin Endocrinol (Oxf)* **56**, 231–238 (2002).
239. Strnadova KA, Votava F, Lebl J, Mühl A, Item C, Bodamer OA, Torresani T, Bouska I, Waldhauser F, Sperl W. *Prevalence of congenital adrenal hyperplasia among sudden infant death in the Czech Republic and Austria. Eur J Pediatr* **166**, 1–4 (2007).
240. Cavarzere P, Samara-Boustani D, Flechtner I, Dechaux M, Elie C, Tardy V, Morel Y, Polak M. *Transient hyper-17-hydroxyprogesteronemia: a clinical subgroup of patients diagnosed at neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. Eur J Endocrinol* **161**, 285–292 (2009).
241. Steigert M, Schoenle EJ, Biason-Lauber A, Torresani T. *High reliability of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia in Switzerland. J Clin Endocrinol Metab* **87**, 4106–4110 (2002).
242. Huidobro Fernández B, Echeverría Fernández M, Dulin Iñiguez E, Ezquieta Zubicaray B, Roldán Martín MB, Rodríguez Arnao MD, Rodríguez Sánchez A. *Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia: transitory elevation of 17-hydroxyprogesterone. J Pediatr Endocrinol Metab* **24**, 155–162 (2011).
243. Gruneiro de Papendieck L, Prieto L, Chiesa A, Bengolea S, Bergada C. *Congenital adrenal hyperplasia and early newborn screening: 17 alpha-hydroxyprogesterone (17 alpha-OHP) during the first days of life. J Med Screen* **5**, 24–26 (1998).
244. UK standards and guidelines for newborn bloodspot screening [en línea]: <http://www.newbornbloodspot.screening.nhs.uk/download/UKNSPCstandards_

- guidelines_Aug2008.pdf>
245. Objetivos y requisitos de calidad del Programa de Cribado Neonatal de enfermedades endocrino-metabólicas del Sistema Nacional de Salud. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. [en línea]: <<http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/docs/ObjetivosCribadoNeonatal.pdf>>
 246. Mizuno H, Ohro Y, Sugiyama Y, Ito T, Hasegawa T, Homma K, Ueshiba H, Ono M, Togari H. *Transient Hyper-17-OHPnemia Unrelated to Cross-Reactions with Residual Fetal Adrenal Cortex Products. Horm Res* **61**, 242–245 (2004).
 247. Ersch J, Beinder E, Stallmach T, Bucher HU, Torresani T. *17-Hydroxyprogesterone in premature infants as a marker of intrauterine stress. J Perinat Med* **36**, 157–160 (2008).
 248. Huysman MW, Hokken-Koelega AC, De Ridder MA, Sauer PJ. *Adrenal function in sick very preterm infants. Pediatr Res* **48**, 629–633 (2000).
 249. Hutton EK, Thorpe J. *Consequences of meconium stained amniotic fluid: what does the evidence tell us? Early Hum Dev* **90**, 333–339 (2014).
 250. **Cavarzere** P, Vincenzi M, Gaudino R, Franceschi R, Perlini S, Camilot M, Teofoli F, Antoniazzi F, Tatò L. *Possible andrologic markers in elevated neonatal 17-hydroxyprogesterone. Fertil Steril* **94**, 2350–2352 (2010).
 251. Linder N, Davidovitch N, Kogan A, Barzilai A, Kuint J, Mazkeret R, Sack J. *Longitudinal measurements of 17alpha-hydroxyprogesterone in premature infants during the first three months of life. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* **81**, F175–8 (1999).
 252. Braun T, Sloboda DM, Tutschek B, Harder T, Challis JR, Dudenhausen JW, Plagemann A, Henrich W. *Fetal and neonatal outcomes after term and preterm delivery following betamethasone administration. Int J Gynaecol Obstet* (2015).
 253. Nimkarn S, New MI. *Prenatal diagnosis and treatment of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. Mol Cell Endocrinol* **300**, 192–196 (2009).
 254. King JL, Naber JM, Hopkin RJ, Repaske DR, Bailey L, Leslie ND. *Antenatal corticosteroids and newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. Arch Pediatr Adolesc Med* **155**, 1038–1042 (2001).
 255. Ng PC, Wong GW, Lam CW, Lee CH, Wong MY, Fok TF, Wong W, Chan DC. *Pituitary-adrenal response in preterm very low birth weight infants after treatment with antenatal corticosteroids. J Clin Endocrinol Metab* **82**, 3548–3552 (1997).