

edad, siendo el número total de datos recogidos de 46.521=23.656 datos de varones (50,8%), 22.865 datos de mujeres (49,2%).

Resultados:

Para cada grupo hemos comparado los datos de los sujetos nacidos en Cataluña y los datos de los nacidos fuera de Cataluña, y no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas por lo que los hemos analizado conjuntamente.

Hemos comparado los datos de los sujetos de origen magrebí con los de origen subsahariano y no encontramos diferencias estadísticamente significativas. Tras agrupar toda la población africana (n=4.005) presentamos los valores de la media aritmética y desviación estándar de peso, talla e IMC por grupos de edades para varones y mujeres. No encontramos diferencias de relevancia clínica para los valores de peso, talla e IMC de la población africana y los correspondientes del estudio español 2010.

Conclusiones:

En resumen, los datos de referencia de los Estudios Españoles de Crecimiento 2010, son aplicables para la población africana que vive en Cataluña.

O1/d2-004

IDENTIFICACIÓN DE UNA NUEVA REGIÓN EN PAR1 SUSCEPTIBLE DE ALTERACIÓN EN PACIENTES CON DISCONDROSTEOSIS DE LÉRI-WEILL Y TALLA BAJA IDIOPÁTICA (TBI).

S. Benito Sanz ⁽¹⁾, M. Aza Carmona ⁽¹⁾, A. Rodríguez Estévez ⁽²⁾, I. Rica Etxebarria ⁽²⁾, R. Gracia ⁽¹⁾, KE. Heath ⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Instituto de Genética Médica y Molecular (INGE-MM), Hospital Universitario La Paz, UAM, IdiPAZ y CIBERER. Madrid, ⁽²⁾ Servicio de Endocrinología Pediátrica, Hospital de Cruces, Baracaldo, Bizkaia.

Introducción:

El gen *SHOX* está localizado en la región pseudoautosómica 1 (PAR1) de los cromosomas sexuales. Alteraciones en el gen y en sus elementos reguladores de la transcripción localizados en el flanco distal 3' son la base molecular del ~60% de los pacientes con discondrosteosis de Léri-Weill (DLW) y en un ~15% de pacientes con talla baja idiopática (TBI). Recientemente se han descrito tres elementos reguladores de la transcripción tipo *enhancer* en el flanco 5' de *SHOX*.

Objetivo:

Análisis genético de los elementos reguladores *enhancer* localizados en el flanco 5' de *SHOX* en pacientes con DLW y TBI sin defecto molecular conocido.

Pacientes y Métodos:

Hemos diseñado un ensayo de MLPA para detectar deleciones y duplicaciones de la región 5' del gen *SHOX*. Se ha realizado un cribado mutacional de pacientes con DLW y TBI sin defecto molecular, mediante dicho ensayo. La confirmación y delimitación de las alteraciones detectadas se ha realizado mediante *array*-CGH (Nimblegen).

Resultados:

Se ha identificado la primera alteración del flanco 5' de *SHOX* en una paciente con TBI. La paciente presenta una talla por debajo del percentil 3, condición armónica y niveles de GH y IGF-1 normales. La deleción ha sido confirmada y delimitada mediante *array*-CGH y extiende entre 250-337 kb.

Conclusión:

1. Se ha identificado la primera deleción que incluye dos de los elementos reguladores de la transcripción del gen *SHOX* localizados en el flanco 5' en un paciente con TBI. 2. La pérdida de estos elementos reguladores podría provocar una disminución en la transcripción de *SHOX*. 3. En resumen, hemos identificado una nueva región de PAR1 que es susceptible de estar alterada en pacientes con DLW o TBI. Dicha región debería ser incluida en el análisis rutinario de PAR1 en pacientes con DLW y TBI.

Tiroides

O1/d2-005

HIPOTIROIDISMO CONGÉNITO PRIMARIO (HC): NORMALIZACIÓN DE LOS VALORES DE TNF- α CON EL TRATAMIENTO CON LEVOTIROXINA.

B. Huidobro Fernández⁽¹⁾, M. Echeverría Fernández⁽¹⁾, A. Rodríguez Sánchez⁽¹⁾, B. Roldán Martín⁽¹⁾, M.D. Rodríguez Arnao⁽¹⁾, M.A. Muñoz Fernández⁽²⁾.

⁽¹⁾ Unidad de Metabolismo/Endocrinología Pediátrica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid, ⁽²⁾ Laboratorio de Inmunobiología Molecular. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción:

El TNF- α participa en procesos de activación, proliferación, diferenciación y apoptosis glial y neuronal, desempeñando un papel fundamental tanto en el desarrollo del sistema nervioso central como en procesos patológicos. Las hormonas tiroideas son necesarias para el desarrollo cerebral normal. Previamente se ha comunicado que los niveles de TNF- α son indetectables en recién nacidos con HC.

Objetivo:

Determinar los niveles de TNF- α en pacientes con

HC antes de iniciar tratamiento y tras la normalización de la función tiroidea.

Sujetos y Métodos:

Determinación de TNF- α , TSH y T4L en pacientes diagnosticados de HC antes de iniciar tratamiento con levotiroxina (basal), a los 3 y a los 6 meses. Determinación TSH/T4L: inmunoquimioluminiscencia. Cuantificación TNF- α : inmunoensayo. Análisis estadístico: SPSS 15.0, t de Student.

Resultados:

Se incluyeron 21 pacientes (9 niñas, 12 niños). Edad al diagnóstico: mediana 9 días (rango 6-25). Gammagrafía tiroidea Tc^{99m}: ausencia de captación (4), ectopia sublingual (6), eutópicos (11). Los resultados se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1

	BASAL	3 MESES	6 MESES
TNF- α (pg/ml)	1.83 \pm 1.61*	3.49 \pm 0.72*	4.87 \pm 0.85*
TSH (mU/L)	100 (8.65 - >100)**	1.3 \pm 3.7	1.3 \pm 2.0
T4L (ng/dL)	0.79 \pm 0.44	1.9 \pm 0.7	1.5 \pm 0.6
Duración tratamiento (días)	---	87.6 \pm 19.7	168.1 \pm 29.6
Dosis LT4 (μ g/kg/día)	11.6 \pm 2.5	6.5 \pm 1.7	4.7 \pm 1.4

*p < 0.001 **Mediana (rango)

En 19 pacientes (90%) los niveles de TNF- α fueron <4 pg/ml en la primera determinación y todos ellos presentaron elevación del TNF- α en la segunda determinación (hubo 2 pacientes en los que no se elevó, fueron los 2 que tuvieron determinación inicial normal), siendo la diferencia estadísticamente significativa. En la tercera determinación todos los pacientes presentaron TNF- α \geq 4 pg/ml excepto 2 pacientes (3.67 y 3 pg/ml).

Conclusiones:

Los niveles de TNF- α se encuentran disminuidos al diagnóstico en los pacientes con HC y se normalizan con el tratamiento con levotiroxina. El TNF- α podría ser uno de los mecanismos implicados en las alteraciones del SNC asociadas al HC y su monitorización puede ser útil en la optimización terapéutica de los pacientes con HC

O1/d2-006

EL ARRAY-CGH "DIRIGIDO" THYROARRAY-V1.0 REVELA DEFECTOS GENÉTICOS EN EL HIPOTIROIDISMO CONGÉNITO NO IDENTIFICABLES POR PCR Y SECUENCIACIÓN.

C.M. Moya⁽¹⁾, E. Vallespín⁽²⁾, M. Polak⁽³⁾, D. Kariyawasam⁽³⁾, P. Lapunzina⁽²⁾, J. Nevado⁽²⁾, J.C. Moreno⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Laboratorio Molecular de Tiroides. Instituto de Genética Médica y Molecular. Hospital Universitario La Paz. Madrid, ⁽²⁾ Laboratorio de Genómica Estructural. INGE-

MM. Hospital Universitario La Paz. Madrid, ⁽³⁾ Endocrinología Pediátrica. Hôpital Necker-Enfants Malades, París, Francia.

En la actualidad se conocen defectos en 26 genes que conducen a Hipotiroidismo Congénito (HC). Sin embargo, sigue siendo reducido el porcentaje de pacientes con mutaciones patogénicas que explican definitivamente el fenotipo clínico. Esto puede indicar la existencia de otros genes responsables de HC aún sin identificar. Sin embargo, el *screening* mutacional se realiza mayoritariamente con técnicas de PCR y secuenciación Saenger, que presentan claras limitaciones.

Objetivo:

Testar la capacidad de los *arrays* de Hibridación Genómica Comparada (CGH) para identificar deleciones o duplicaciones en pacientes con hipotiroidismo molecularmente no filiado tras *screening* mutacional clásico.

Métodos:

Diseño personalizado de un *array*-CGH dirigido al estudio de alteraciones en el número de copia de 28 genes específicos de tiroides (TG, TPO, DUOX2, NIS, R-TSH, etc) y sus factores de transcripción. Se utilizó una plataforma Agilent de 60.000 oligos por genoma. La resolución media en las áreas de interés fue de 1 oligo por cada 150 bp, y de 125 kbp para el resto del genoma. Se estudiaron 16 pacientes con hipotiroidismo por defecto de organización del yodo sin mutaciones en TPO, DUOX2 o DUOX2A2, o con mutaciones monoalélicas de DUOX2 e HC grave y permanente.

Resultados:

Se identificaron deleciones heterocigotas en el gen de tiroglobulina de 1.2 y 10 Kbp que eliminan respectivamente los exones 20 y 45 en 2 pacientes. Una deleción de 50 bp que elimina parte del exón 16 de DUOX2 en un paciente con una única mutación A1277G identificada en el mismo gen. Una duplicación introexónica que disrupciona el exón 5 de DUOX2 y una deleción de 470 bp que elimina la región codificante del exón 12 de PAX8. La predicción patogénica de estas aberraciones genéticas es muy alta.

Conclusiones:

El *array*-CGH de diseño "personalizado" de tiroides detecta defectos genéticos que se escapan al estudio clásico de mutaciones. La gran densidad de oligos permite la identificación de deleciones/duplicaciones muy pequeñas que incluso *arrays* genómicos comerciales (Agilent 44K y 244K) no hubiesen detectado. Las nuevas técnicas genómicas se hacen indispensables en caso de detección fallida de alteraciones genéticas en los genes clásicos de la hormonogénesis tiroidea.

O1/d2-007

ENFERMEDAD DE HIRSCHSPRUNG Y ALTERACIONES EN EL PROTOONCOGEN RET.

M.A. Molina Rodríguez ⁽¹⁾, E. Bermúdez de Castro López ⁽¹⁾, A. De La Puente Arévalo ⁽¹⁾, G. Prieto Bozano ⁽²⁾, I. González Casado ⁽¹⁾, R. Gracia Bouthelie ⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Servicio de Endocrinología Infantil, Hospital Universitario La Paz, Madrid; ⁽²⁾ Servicio de Gastroenterología Infantil, Hospital Universitario La Paz, Madrid.

Introducción:

Las neoplasias endocrinas múltiples tipo 2 (MEN2), de herencia autosómica dominante, van asociadas a alteraciones en el protooncogen RET. El MEN2 lo podemos subdividir en: MEN2A (carcinoma medular de tiroides, feocromocitoma, hiperplasia o adenoma paratiroideo y, con frecuencia, enfermedad de Hirschsprung), MEN2B (carcinoma medular de tiroides, feocromocitoma, neuromas cutáneos y hábito marfanoide) y carcinoma medular de tiroides familiar (CMTF) (carcinoma medular de tiroides y en ocasiones Hirschsprung).

Objetivos:

Revisión de los pacientes diagnosticados de enfermedad de Hirschsprung en los que posteriormente se ha confirmado la presencia de mutación en el gen RET. Se han recogido datos sobre los antecedentes familiares, patologías asociadas, resultado del estudio genético, seguimiento y tratamiento realizado (tiroidectomía y anatomía patológica).

Resultados:

Se han estudiado cinco pacientes con enfermedad de Hirschsprung y mutación confirmada en el gen RET (en dos de ellos asociada al MEN2A, en otro al CMTF y los dos últimos presentan una mutación *de novo*). Cuatro de los pacientes tenían una afectación intestinal amplia (colon e ileon terminal) y en los cinco el despistaje de carcinoma medular de tiroides, hiperparatiroidismo y feocromocitoma fue negativo. Se ha realizado tiroidectomía profiláctica en tres de los pacientes, a las edades de 4,8, 5 y 13 años, y en los otros dos está pendiente.

Conclusiones:

El 82% de los pacientes con enfermedad de Hirschsprung con afectación total colónica presentan alteración en el protooncogen RET y el 33% si el segmento afecto es corto. Por tanto, ante el diagnóstico de enfermedad de Hirschsprung, se debe considerar la realización de un estudio genético para descartar un síndrome MEN2. Por otra parte, la prevalencia del cáncer medular tiroideo en pacientes con MEN2 es mayor del 90%, por lo que, ante la confirmación genética de la enfermedad, es obligado realizar una tiroidectomía profiláctica.

O1/d2-008

DETECCIÓN DE YODOTIROSINAS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS HUMANAS: ¿CROMATOGRFÍA LÍQUIDA (HPLC) AISLADA O EN TÁNDEM CON ESPECTROMETRÍA DE MASAS (LC/MS)?

M. Sanz Rodríguez ⁽¹⁾, A. Hernanz Macías ⁽²⁾, A. Buño Soto ⁽²⁾, JC Moreno Navarro ⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Laboratorio Molecular de Tiroides. INGEMM-Instituto de Genética Médica y Molecular. Hospital Universitario La Paz. Madrid; ⁽²⁾ Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos. Hospital Universitario La Paz. Madrid.

El enzima tiroideo DEHAL1 recicla yodo a través de la desyodación de mono- y diyodotirosinas (MIT, DIT) para la síntesis mantenida de hormonas tiroideas. Los defectos genéticos en DEHAL1 producen un tipo de hipotiroidismo congénito que puede no ser detectado en el *screening* neonatal, con el consiguiente riesgo de retraso mental en los niños. El diagnóstico específico de este HC es la elevación de MIT y DIT en plasma y orina. En centros de investigación especializados se ha utilizado un radioinmunoensayo (RIA) para determinar DIT. En la actualidad no existe método rutinario de determinación de yodotirosinas aplicable al diagnóstico, ni tampoco al *screening* metabólico neonatal en papel de filtro.

Objetivo:

Determinar la viabilidad de una determinación precisa de ambas yodotirosinas por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) o bien la necesidad de la espectrometría de masas para discriminar niveles normales y patológicos de MIT y DIT.

Métodos:

Se utilizó un cromatógrafo HPLC Waters 2695 y un detector UV (Waters 2487 Dual Absorbance detector) y una columna C18 para fase reversa (*Aminoacid physiologic Pico-Tag*[®]). El análisis se realizó con el software Empower de Waters.

Resultados:

El método Pico-Tag[®] detecta picos de MIT y DIT en solución acuosa con tiempos de retención de 61 y 52 min en rangos de concentración mili-Molar. Para testar la sensibilidad y la capacidad de discriminación del método en muestras bioquímicamente más complejas, se aplicó HPLC a plasmas control dopados con concentraciones conocidas de MIT y DIT en rango nano-Molar, en una curva de calibración inicial de 3 puntos (0, 1 y 10 nM), dentro de los rangos de normalidad descritos en población general para MIT (1-10 nM) y DIT (1-4 nM). En estos rangos de concentración, los picos de MIT y DIT se encuentran solapados por los aminoácidos lisina y fenilalanina, cuyas concentraciones son 1.000 veces superiores a las de las moléculas investigadas.

Conclusiones:

El método de HPLC comercial utilizado no es capaz de obtener una sensibilidad/especificidad adecuadas para detectar MIT y DIT. El diagnóstico de hiper-yodotirosinemia requiere un mayor rendimiento analítico, como el que actualmente ofrecen las nuevas técnicas de espectrometría de masas en tándem.

Suprarrenales

O2/d2-009

FRECUENCIA DE PORTADORES Y AFECTOS EN FAMILIAS DE HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA ¿ES SUPERIOR A LA ESPERADA?

B. Ezquieta Zubizaray, A. Tabernero, J.L. Santomé Collazo, A. Sánchez Muñoz, A. Simon Zárata, L. Galbis Martínez y Grupo de trabajo HSC de la SEEP.

Hospital Materno Infantil Gregorio Marañón. Laboratorio de Diagnóstico Molecular. Madrid.

Introducción:

La HSC por déficit de esteroide 21-hidroxilasa (21OHD), aunque es una enfermedad que limita la procreación de los individuos afectados, es una enfermedad no infrecuente, siendo en sus formas no clásicas la enfermedad recesiva más frecuente. La conversión génica y el efecto fundador en la creación y diseminación de nuevos alelos, respectivamente, contribuyen a explicar este fenómeno pero otros aspectos potenciales como una transmisión preferente de alelos mutados no han sido valorados con detalle.

Pacientes y Métodos:

Se seleccionaron 326 familias (1.430 individuos, 656 progenitores y 774 hijos/as) completamente genotipadas con segregación de alelos verificada, más de un hijo/a y al menos un caso afecto de HSC (forma clásica n=138; 322 individuos o no clásica n=188; 448 individuos). En 23 familias (104 individuos) el número de descendientes era superior a tres. El estudio molecular incluyó análisis directo CYP21A2 por PCR e hibridación específica de alelo, estudio de deleciones/conversiones/duplicaciones, secuenciación complementaria y análisis indirecto microsatélites. Test estadísticos: comparación de proporciones y chi-cuadrado.

Resultados:

Se observó una significativa ($p < 0,0001$) desviación del número de afectados y portadores que se esperaría para un patrón mendeliano: 441 afectados, 233 portadores y 100 no portadores (57%/30%/13%). Dado que las familias son seleccionadas por presentar un caso índice, se evitó el sesgo introducido eliminando del recuento un caso afecto por familia. La distri-

bución observada 115 (25%)/233 (52%)/100 (23%) se aproxima a la mendeliana esperada del 25/50/25 ($p=0,6713$). Cuando se examinaron separadamente las familias con formas clásicas (34/101/49) y no clásicas (77/131/52), las distribuciones 18% / 55% / 27% y 30% / 50% / 20%, respectivamente, fueron similares a la esperada ($p=0,31$ CL y $p=0,29$ NC). En las familias con número elevado de hijos ($n=23$, 104 individuos) se analizaron pedigrís completos ya que el efecto del caso índice queda diluido. La distribución obtenida 31%/51%/15% no arrojó diferencias ($p=0,42$), si bien la reducción de individuos analizados *per se* también contribuiría a una menor significación.

Conclusión:

La proporción de afectados y portadores en las familias con HSC-21OHD tanto clásicas como tardías es próxima a la esperada en la distribución mendeliana. Un mayor número de descendientes portadores de los alelos deficientes no parece contribuir a la probada transmisión preferente de algunos alelos 21OHD.

O2/d2-010

TRATAMIENTO PRECOZ CON METFORMINA (DE LOS 8 A LOS 12 AÑOS) EN NIÑAS CON PUBARQUIA PRECOZ PARA PREVENIR EL DESARROLLO DEL SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO EN LA ADOLESCENCIA: ESTUDIO ALEATORIZADO DURANTE 7 AÑOS.

L. Ibáñez Toda^(1,5), A. López-Bermejo⁽²⁾, M. Díaz^(1,5), M. Victoria Marcos^(3,5), F. de Zegher⁽⁴⁾.

⁽¹⁾ Endocrinología, Hospital Sant Joan de Déu, Universitat de Barcelona, ⁽²⁾ Endocrinología, Hospital Dr. Josep Trueta, Girona, ⁽³⁾ Endocrinología, Hospital de Terrassa, Terrassa, ⁽⁴⁾ Department of Woman & Child, Universidad de Lovaina, Bélgica, ⁽⁵⁾ CIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM).

Introducción:

Las niñas con historia de pubarquia precoz (PP), bajo peso al nacer y recuperación rápida de peso y talla postnatal tienen mayor riesgo de desarrollar síndrome del ovario poliquístico (SOP) en la adolescencia. En estas pacientes, hemos comparado los efectos del tratamiento precoz y prolongado con metformina con los del tratamiento tardío y de corta duración sobre el desarrollo de SOP en la adolescencia.

Diseño del Estudio:

Estudio aleatorizado y abierto de 7 años de duración, realizado en 38 niñas con bajo peso al nacer y PP. A la edad de 8 años, las pacientes fueron aleatorizadas en dos subgrupos: a) grupo de tratamiento precoz ($n=19$), en las que se administró metformina