

# Talla final y características clínicas, bioquímicas y moleculares de portadores de una mutación en el gen de la 21 hidroxilasa

Final height and clinical, biochemical and molecular characteristics of carriers of a mutation in 21 hydroxylase gene

Verónica Sánchez Escudero<sup>1</sup>, María José Alcázar Villar<sup>2</sup>, Carolina Bezanilla López<sup>3</sup>, Amparo González Vergaz<sup>1</sup>, Beatriz García Cuartero<sup>1</sup>, María José Rivero Martín<sup>4</sup>, Begoña Ezquieta Zubicaray<sup>5</sup>

<sup>1</sup> *Pediatría. Hospital Universitario Severo Ochoa. Leganés, Madrid*

<sup>2</sup> *Pediatría. Hospital Universitario de Fuenlabrada. Fuenlabrada, Madrid*

<sup>3</sup> *Pediatría. Hospital Fundación Alcorcón. Alcorcón, Madrid*

<sup>4</sup> *Pediatría. Hospital Universitario de Fuenlabrada. Fuenlabrada, Madrid*

<sup>5</sup> *Laboratorio de Diagnóstico Molecular. Hospital Universitario Gregorio Marañón. Madrid*

## Resumen

**Introducción:** La hiperplasia suprarrenal congénita es una enfermedad autosómica recesiva: está por aclarar la posible repercusión clínico-analítica que tiene el estado de portador. **Material y métodos:** 44 pacientes fueron diagnosticados en la consulta de Endocrinología Infantil de 3 hospitales (1996-2017). La talla fue determinada según tablas del Estudio Español de Crecimiento 2008. 17-hidroxiprogesterona basal y tras 250 mcg de ACTH fueron analizados por ELISA. El estudio molecular del gen *CYP21A2* se realizó mediante PCR-ASO y MLPA y el análisis estadístico con el programa SPSS21.0. **Resultados:** de 44 pacientes (72,7% mujeres), 12 llegaron a talla adulta. La edad media al diagnóstico fue 7,2 años (0-16 años). El motivo de consulta más frecuente fue la pubarquia precoz (29,5%) seguido de antecedentes familiares (22,7%). Cuatro mujeres desarrollaron pubertad precoz (9,0%), precisando en tres tratamiento frenador. El 44,1% presentaba aceleración de la maduración ósea. El nivel medio de 17-hidroxiprogesterona basal y tras ACTH fue 2,26 ng/ml ( $\pm$  2,0) y 9,40 ng/ml ( $\pm$  4,2), respectiva-

mente. En el estudio molecular, la mutación más prevalente fue p.Val282Leu (70,4%). Un 25,0% presentó una mutación severa, sin existir diferencias clínico-bioquímicas significativas entre el grupo portador de leve versus severa. La talla final fue -1,05 DS y -0,26 DS al corregirlo por su talla genética (-0,20 DS en portadores de mutación leve versus -0,57 DS en severa, no significativo). **Conclusión:** la talla final de pacientes portadores de una mutación en *CYP21A2* es similar a su talla genética. Comparten síntomas con las formas tardías de hiperplasia suprarrenal congénita, con posible influencia del genotipo, precisando un seguimiento además de consejo genético.

**Palabras clave:** Hiperplasia suprarrenal congénita, *CYP21A2*, estado de portador, talla adulta, pubarquia precoz, hiperandrogenismo

## Abstract

**Introduction:** Congenital adrenal hyperplasia is an autosomal recessive disease: the possible clinical-analytical repercussion of being carrier remains unclear. **Materials and methods:** 44 patients were diagnosed in Pediatric Endocrinology centers of 3 hospitals between 1994-2017. Height was determined according to "Estudio Español de Crecimiento 2008" charts. Basal and ACTH-stimulated (250 mcg) 17-hydroxyprogesterone levels were measured by ELISA. Molecular analysis of *CYP21A2* gene was performed by PCR-ASO and MLPA and statistical

## Correspondencia:

Verónica Sánchez Escudero

Pediatría

Hospital Universitario Severo Ochoa, Leganés, Madrid

E-mail: vero\_sescudero@hotmail.com

E-mail: vsescudero@salud.madrid.org

analysis using SPSS21.0 program. **Results:** 12 of 44 patients (72.7% women) reached adult height. The average age at diagnosis was 7.2 years (0-16). The most frequent reason for consultation was premature pubarche (29.5%), followed by family history (22.7%). Four women developed precocious puberty (9.0%) and three required treatment. 44.1% showed bone maturation acceleration. Mean basal and ACTH-stimulated 17-hydroxy-progesterone plasma levels were 2.26 ng/ml ( $\pm 2.0$ ) and 9.40 ng/ml ( $\pm 4.2$ ), respectively. From the molecular study, the most prevalent mutation was p.Val282Leu (70.4%). 25% had a severe mutation, without significant clinical-biochemical differences between groups with mild or severe mutation. The final height of 12 patients was -1.05 SD and -0.26 SD adjusted by their target height (-0.20 SD for mild mutation carriers versus -0.57 SD for severe mutation carriers, not statistically significant). **Conclusions:** the final height of CYP21A2 mutation carriers is similar to their potential genetic height. They share symptoms with non-classic forms of congenital adrenal hyperplasia, with a possible influence of the genotype, therefore requiring follow-up in addition to genetic counseling.

Key words: *Congenital adrenal hyperplasia, CYP21A2, carrier status, adult height, premature pubarche, hyperandrogenism*

## Introducción

La hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) es una enfermedad autosómica recesiva en la cual más del 95% de los casos son debidos a una alteración en la actividad de la enzima 21  $\alpha$ -hidroxilasa, codificada por el gen CYP21A2. Las formas clásicas tienen una incidencia de 1:10000-1:15000 mientras que la incidencia de las no clásicas es mucho mayor<sup>1,2,3</sup>. La prevalencia de heterocigotos en la población general es bastante común y varía según el grupo étnico: desde 1:10 a 1:60 siguiendo la ley de Hardy-Weinberg, siendo la población de judíos Ashkenazi la de mayor prevalencia reportada<sup>4</sup>.

El estado de portador conlleva en la mayoría de los casos una disfunción adrenocortical demostrada por el aumento de los niveles de 17-hidroxi-progesterona (17-OH-progesterona) por encima del percentil 95 tras estimulación con ACTH<sup>5</sup>. Sin embargo, los estudios previos son contradictorios en la posible repercusión fenotípica que esto puede tener en los individuos, dado que hay portadores con hiperandrogenismo clínico evidente manifestado como pubarquia precoz, alteraciones menstruales o hirsutismo, así como portadores totalmente asintomáticos. No hay estudios además que valoren la talla adulta.

Por otro lado, no hay guías específicas con indicaciones concretas sobre el manejo de la población

portadora de una mutación de 21  $\alpha$ -hidroxilasa, dado que como se ha mencionado anteriormente, se debate sobre la posible repercusión clínica de la alteración. Sin embargo, sí está clara la necesidad de consejo genético en estos pacientes, principalmente en aquellos que portan variantes causantes de las formas severas de la enfermedad<sup>6</sup>.

Nuestro objetivo consiste, por tanto, en describir y analizar las características clínicas (entre ellas la talla final), bioquímicas y moleculares de pacientes en edad pediátrica portadores de mutación en uno de los alelos (heterocigotos simples) del gen CYP21A2. Además se analiza la posible correlación genotipo-fenotipo.

## Material y métodos

Se trata de un estudio descriptivo y longitudinal llevado a cabo en 44 pacientes en seguimiento en consultas de Endocrinología pediátrica de 3 hospitales de la Comunidad de Madrid entre 1996 y 2017. En todos ellos se evaluaron las características clínicas y bioquímicas y se confirmó el estado de portador del déficit de 21  $\alpha$ -hidroxilasa (CYP21A2) por estudio molecular.

Se recogieron datos antropométricos, todos expresados en desviaciones estándar (DE) según las gráficas del Estudio Español de Crecimiento de 2008 para peso y talla y las gráficas de Hernández *et al.* 1988 para el IMC<sup>7,8</sup>. La talla final corregida en DE fue definida por: DE talla final - DE talla media parental. Se consideró talla final cuando la velocidad de crecimiento fue inferior a 1 cm al año o existía una osificación completa de las epífisis. El desarrollo puberal fue determinado según los estadios de Tanner por sexo y el grado de hirsutismo según la escala de Ferriman-Gallwey (>8).

La edad ósea fue analizada según los estándares de Greulich y Pyle.

Los niveles de 17-OH-progesterona fueron analizados por ELISA en procesador Zenit up (A. Menarini Diagnostics). Se determinaron las concentraciones basales en todos los pacientes. Sin embargo, los niveles a los 60 minutos tras estímulo con 250 mcg de ACTH sólo se recogieron en 36 de ellos, los 8 restantes eran casos en estudio por antecedente familiar de HSC y se solicitó directamente el estudio molecular.

El cribado neonatal de la HSC se realizó a todos los recién nacidos en el Hospital Universitario Gregorio Marañón, de referencia para dicha prueba, mediante obtención de muestra de sangre en papel de filtro a las 48 horas de vida recogida en el hospital de nacimiento.

El estudio molecular del gen *CYP21A2* (NM\_00500.5) fue realizado en todos los casos en el Laboratorio de Diagnóstico Molecular del Hospital Universitario Gregorio Marañón previa extracción de una muestra de sangre venosa en el hospital de origen. Todos los responsables legales de los pacientes dieron su consentimiento. La segregación de alelos se estableció mediante análisis de los DNAs parentales. Se llevó a cabo mediante amplificación por reacción en cadena de la polimerasa e hibridación específica de alelo (PCR-ASO) y, en aquellos casos en los que se precisó, estudio complementario de dosis génica (duplicaciones, deleciones y conversiones) mediante técnica de Southern (pC21/3c, BglII y Taq I) o análisis MLPA (amplificación dependiente de ligasa de múltiples sondas) en la actualidad. El estudio de las mutaciones puntuales incluyó el análisis de c.92C>T (p.Pro31Leu), c.293-13A>C>G, c.292+5G>A, c.332-339del, c.518T>A (p.Ile173Asn), c.[701T>A;713T>A;719T>A] (p.Ile237Asn;p.Val238Glu;p.Met240Lys), c.844G>T (p.Val282Leu), c.923dupT, c.955C>T (p.Gln319X), c.1069C>T (p.Arg357Trp), c.1280G>A (p.Arg427His) y c.1360C>T (p.Pro454Ser).

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS21.0. Los parámetros estudiados se describen como media y desviación estándar. En el análisis comparativo se realizaron test no paramétricos para variables ordinales y para aquellas que no cumplían una distribución normal. Para estudiar la correlación entre variables cuantitativas se utilizó el coeficiente *r* de Pearson. Se consideró significativo valores de *p* inferiores a 0,05.

## Resultados

Fueron incluidos 44 pacientes con confirmación de estado de portador de déficit de 21  $\alpha$ -hidroxilasa con una distribución por sexo de 72,7% mujeres y 27,3% varones. Entre ellos se incluyeron tres parejas y un trío de hermanos.

Entre los antecedentes perinatales, la edad gestacional media fue de 37,8 semanas siendo un 13,6% recién nacidos pretérminos (un gran prematuro) y dos embarazos gemelares. La antropometría al na-

cimiento fue normal, con una media de peso de -0,59 DS ( $\pm$  1,02) y la longitud de -0,45 DS ( $\pm$  0,91), excepto en dos pacientes que fueron pequeños para edad gestacional (PEG) con crecimiento recuperador en los primeros meses. Cuatro recién nacidos precisaron ingreso en UCI neonatal por diversos motivos (prematuridad, ictericia y distrés respiratorio).

La edad media al diagnóstico fue de 7,2 años (rango de 0-16 años), con un 69,7% de prepuberales en dicho momento. Destacan cuatro pacientes en los que el estudio se inició antes del año de vida: dos por antecedente materno de HSC y dos por hipertrofia de clítoris.

Los motivos más frecuentes por los cuales fueron derivados a la consulta fueron la pubarquia precoz (29,5%) seguido de los antecedentes familiares de HSC (22,7%), el hirsutismo (6,8%), el aumento de olor apocrino (6,8%) y la telarquia precoz (6,8%). Otras causas fueron la clitoromegalia (2), hipertricosis (2), acné (1), obesidad (2), talla baja (2) e hipercolesterolemia (1).

La frecuencia de los síntomas presentados en la primera consulta o durante el seguimiento queda reflejada en la [Tabla 1](#). El más frecuente fue la pubarquia precoz, que desarrollaron el 54,3% de los pacientes pero también aparecieron axilarquia precoz (13,9%) y telarquia precoz (11,6%). El hirsutismo estaba presente en el 42,8% de los individuos puberales o postpuberales. La edad media de la menarquia fue 11,7 años ( $\pm$  1,3) aunque cuatro mujeres (9,0 %) desarrollaron pubertad precoz en un rango que va de los 6 años y medio a los 7 años 10 meses. Ninguna de ellas tenía antecedente de PEG. En tres de los casos se pautó tratamiento frenador con análogos de GnRh. Si excluimos aquellas que recibieron dicho tratamiento la edad media de la menarquia asciende a los 12,0 años (rango: 10,5-14,6 años). De las 10 pacientes cuya menarquia había acontecido hacía más de dos años, 4 presentaban alteraciones menstruales, recibiendo 3 de ellas tratamiento con anticonceptivos orales.

En la primera consulta, 5 pacientes del total presentaban obesidad y 2 sobrepeso, mientras que en el

**Tabla 1.** Frecuencia de síntomas en la primera consulta o en el seguimiento.

Síntoma	Frecuencia (%)
Pubarquia precoz	54,3%
Aceleración de maduración ósea	44,1%
Hirsutismo	42,8%
Axilarquia precoz	13,9%
Hipertrofia de clítoris	6,8%
Pubertad precoz	9%

**Tabla 2.** Frecuencia de variantes encontradas en el estudio molecular.

Variante (RefSeq NM_000500.6)	Número absoluto (frecuencia)	Efecto funcional
c.92C>T (p.Pro31Leu)	1	Leve
c.293-13C>G (655G)	4	Severo
c.332_339del (del8pb)	1	Severo
c.518T>A (p.Ile173Asn)	1	Severo
Del/conv del gen funcional (c.293-13A/C>G; c.332_339del)	1	Severo
c.844G>T (p.Val282Leu)	31 (70,4%)	Leve
c.955C>T (p.Gln319*)	2	Severo
c.1069C>T (p.Arg357Trp)	2	Severo
c.1360C>T (p.Pro454Ser)	1	Leve

momento de la última visita había 3 pacientes obesos y 2 con sobrepeso.

En cuanto a la maduración ósea se objetivó una aceleración en un 44,1% de los casos, con una media de edad ósea respecto a la cronológica de +0,9 años ( $\pm 1,1$ ). El caso más extremo se presentó en una niña con pubertad precoz asociada cuya edad ósea sobrepasaba en casi 3 años la edad cronológica.

De los 44 pacientes reclutados, 12 llegaron a talla final (10 mujeres / 2 varones) siendo la media de -1,05 DS ( $\pm 1,0$ ): media de 157,5 cm para el sexo femenino y 175,4 cm para el masculino. Sin embargo, al realizar la corrección por la talla genética la media global fue de -0,26 DS ( $\pm 1,1$ ).

En 7 pacientes se inició tratamiento con hidroaltesona, la mayoría durante un período corto de tiempo, pendiente de los resultados del estudio genético. En otro de los casos la indicación de tratamiento fue la amenorrea primaria que se resolvió tras iniciar dicha terapia.

Se estudiaron los valores de 17-OH-progesterona basal en todos los pacientes a excepción de 2 recién nacidos en los que se solicitó directamente el estudio genético por antecedente materno de hiperplasia suprarrenal congénita. Los valores medios basales fueron de 2,26 ng/ml ( $\pm 2,0$ ). Se completó el estudio con el test de estimulación con 250 mcg de ACTH intravenoso en 36 de ellos, con una media de 17-OH-progesterona a los 60 minutos de 9,40 ng/ml ( $\pm 4,2$ ). En 14 casos esta respuesta fue superior a 10 ng/ml.

La confirmación del estado de portador por estudio molecular fue realizada en todos los pacientes,

siendo la mutación más prevalente p.Val282Leu (70,4%). Las variantes encontradas quedan reflejadas en la [tabla 2](#). Un 75,0% eran variantes consideradas como leves mientras que el 25,0% restante eran variantes severas.

Se llevó a cabo un análisis comparativo para determinar posibles diferencias en las características clínico-bioquímicas de los pacientes según el genotipo (portador de variante leve versus severa) sin encontrarse significación estadística en las distintas variables analizadas ([Tabla 3](#)).

No se objetivó correlación estadísticamente significativa entre los niveles de 17-OH-progesterona basal y tras ACTH con la talla final ni la talla final corregida (DS), la aceleración de la edad ósea ni la edad de la menarquia.

## Discusión

La frecuencia de heterocigotos portadores de la deficiencia 21  $\alpha$ -hidroxilasa es muy alta en la población general, estimándose en 1:55 a partir de estudios de cribado neonatal para las variantes severas, aunque publicaciones posteriores sugieren aún una mayor prevalencia<sup>5,9</sup>. Si este estado de portador tiene o no repercusión clínica es algo contradictorio a día de hoy según los resultados de la literatura previa. En nuestra cohorte de 44 pacientes aparece una prevalencia bastante alta de sintomatología secundaria a hiperandrogenismo, que podría ser comparada en muchos de los casos con las formas no clásicas de la HSC. En un estudio publicado por nuestro grupo en 2017 se recogieron, entre otras, las características clínicas de pacientes con la forma no clásica de la enfermedad, de forma que hemos objetivado una superposición fenotípica cuan-

**Tabla 3.** Análisis comparativo de variables clínico-bioquímicas en portadores de variantes leves versus variantes severas.

Variable	Nº casos leve/severa	Variante leve	Variante severa	Significación
Edad de 1ª consulta (años)	33/11	7,3 ( $\pm 4,2$ )	6,9 ( $\pm 3,4$ )	P=0,15
Aceleración edad ósea (años)	31/11	0,8 ( $\pm 1,1$ )	1,2 ( $\pm 1,2$ )	P=0,39
Edad menarquia (años)	11/3	12,0 ( $\pm 1,1$ )	10,1 ( $\pm 1,5$ )	P=0,15
Pubertad precoz (%)	1/3	3,4%	37,5%	P=0,08
Talla final (DS)	10/2	-0,9 ( $\pm 1,1$ )	-1,8 (0,6)	P=0,45
Talla final corregida (DS)	10/2	-0,2 ( $\pm 1,2$ )	-0,5 (1,1)	P=0,65
Talla diana (DS)	30/10	-0,9 ( $\pm 0,8$ )	-1,0 ( $\pm 0,34$ )	P=0,07
170Hp basal (ng/ml)	31/11	2,2 ( $\pm 1,9$ )	2,2 ( $\pm 2,1$ )	P=0,34
170Hp tras ACTH (ng/ml)	29/7	9,4 ( $\pm 4,4$ )	9,3 ( $\pm 3,2$ )	P=0,35

do se comparan ambas poblaciones, siendo la pubarquia precoz en prepuberales o el hirsutismo en postpuberales los hallazgos más importantes<sup>10</sup>. Hay estudios previos en concordancia con estos resultados<sup>11,12,13</sup>. Destaca el presentado por *Paris F et al*<sup>11</sup> realizado en 36 niñas francesas con pubarquia precoz en el que encuentran un 22% de pacientes heterocigotas para una variante patogénica en *CYP21A2*, porcentaje mayor a lo esperado para la población general. Sin embargo, existen otros trabajos con datos contrarios en los que, a pesar de las alteraciones bioquímicas no encuentran diferencias en la sintomatología respecto a los controles<sup>14</sup>.

Asimismo, en nuestro estudio cabe destacar un 9% de pacientes, todas mujeres, con pubertad precoz central sin que ninguna de ellas tuviese antecedente de PEG, obesidad o familiar con pubertad precoz. La edad media global de la menarquia fue de 11,7 años ( $\pm 1,3$ ), algo más temprana que lo reportado recientemente para población española<sup>15</sup>. ¿Es el hiperandrogenismo un desencadenante de la pubertad precoz en estos pacientes? Un grupo italiano analizó los niveles basales y tras ACTH de 17-OH-progesterona en una cohorte de niños con pubertad precoz comparándolos con otro grupo con desarrollo puberal normal y objetivaron diferencias significativas entre ambos: existían niveles superiores de andrógenos en el primer grupo y eran comparables a los descritos en individuos portadores de la alteración *CYP21A2*<sup>16</sup>. Sí que es conocida la repercusión que tiene un estado mantenido de hiperandrogenismo en el eje hipotálamo-hipofisario-gonadotropo pero se precisan más estudios en población infantil para determinar si la heterocigosis del déficit de 21  $\alpha$ -hidroxilasa es un factor de riesgo para desarrollar una pubertad precoz central.

A pesar de que un porcentaje importante de pacientes mostraba una aceleración en la maduración ósea, la media de talla final corregida por la talla genética es de -0,26 DS, similar a su diana. Sin embargo, si lo comparamos con la población general presentan una talla inferior a la media poblacional (-1,05 DS). No hay estudios previos que valoren la talla adulta en estos pacientes, ni si el hiperandrogenismo puede tener repercusión clínica en este aspecto, limitando su talla final o provocando una maduración temprana durante la infancia.

Como se ha comentado anteriormente, sabemos que el estado de portador conlleva en la mayoría de los casos una disfunción adrenocortical con aumento de los valores de 17-OH-progesterona, pero también disminución de 11-deoxicorticosterona y aldosterona<sup>17</sup>. Existen múltiples estudios en la literatura que demuestran una elevación de los niveles de 17-OH-progesterona por encima del percentil 95 tras estimulación con ACTH, incluso, alcanzando cifras en algunos de los casos propias de las formas tardías de HSC como se muestra en nuestra cohorte. Por el contrario, no parecen existir diferencias en los niveles basales entre los heterocigotos y los no portadores sanos<sup>5, 14,18,19</sup>. En nuestros resultados, los valores medios basales y tras ACTH fueron de 2,26 ng/ml ( $\pm 2,0$ ) y 9,40 ng/ml ( $\pm 4,2$ ) respectivamente, similar a lo publicado por *Alonso y Ezquieta*<sup>20</sup> para población de la misma área geográfica (media de 2,2 ng/ml y 7,3 ng/ml respectivamente). El solapamiento, por tanto, de los valores hormonales entre heterocigotos e individuos no afectados así como heterocigotos e individuos con formas tardías hace difícil establecer un punto de corte para este grupo.

Se han propuesto varios cálculos de cocientes sustrato-producto con el objetivo de poder diferenciar



estos individuos de la población no portadora. Uno de ellos es el cociente 17-OH-progesterona/11-deoxicortisol tras ACTH medido por RIA, que mostró una sensibilidad y especificidad del 100%<sup>17</sup>. El grupo de Kulle *et al*<sup>21</sup> propuso la ecuación ((17-OH-progesterona + 21deoxicortisol)/cortisol x1000) tras estimulación con ACTH (analizado por espectrometría de masas), determinando un punto de corte de 8,4 aunque con una sensibilidad y especificidad más moderada<sup>21</sup>. Sin embargo, ninguno de ellos puede sustituir a día de hoy a los estudios de genética molecular cuando existe acceso a ellos, dado que éstos resultan imprescindibles para el diagnóstico de confirmación y el consejo genético<sup>22</sup>.

En nuestro trabajo, el estudio molecular fue realizado en todos los pacientes, siendo la variante p.Val282Leu la más frecuentemente encontrada, similar a lo reportado en la literatura previa en población europea cuando se analizan grupos de individuos con hiperandrogenismo clínico, con porcentajes que van desde 53 al 76%<sup>11,23,24</sup>. No hemos encontrado diferencias significativas en los parámetros tanto clínicos como bioquímicos analizados entre portadores de variante leve versus severa. Aun así, destaca una talla final corregida por la talla genética inferior para el segundo grupo pero sin ser estadísticamente significativa y, dada la escasa muestra de variantes severas, no es posible sacar conclusiones.

El déficit de 21  $\alpha$ -hidroxilasa presenta gran heterogeneidad fenotípica pero sí está descrita una buena correlación genotipo-fenotipo, siendo aproximadamente de un 90%<sup>23,25</sup>. Sin embargo, esto varía en función del tipo de variante encontrada y su asociación con otras alteraciones, hallazgos que se van conociendo en los últimos años gracias al avance en los estudios de genética molecular. Por ejemplo, la variante p.Val282Leu debe ser considerada como leve siempre que se haya descartado en este alelo la presencia de otra mutación severa incluida la variante intrónica c.292+5G>A<sup>26</sup>. Este procedimiento ha sido realizado en nuestros pacientes siendo descartada dicha asociación. Especial relevancia tiene también el polimorfismo p.Asn49Ser que se ha encontrado como posible factor implicado en el hiperandrogenismo en individuos sin alteraciones en *CYP21A2*<sup>27</sup>. Asimismo, se han descrito variantes localizadas en la región 3'UTR de dicho gen que modifican sitios de unión a micro-RNAs y que pueden contribuir a un fenotipo similar a las formas tardías de la HSC cuando se asocian a una de las variantes patogénicas clasificada como leve presente en heterocigosis<sup>28</sup>.

La existencia de otros genes modificadores de la síntesis y/o acción de las hormonas esteroideas, polimorfismos de la enzima p450 oxidoreductasa o variantes en los factores de splicing del RNA pueden determinar cambios en la actividad enzimática

de 21  $\alpha$ -hidroxilasa que se suman a la alteración producida ya por la variante que afecta a *CYP21A2*<sup>23,29,30</sup>. Se han descrito incluso polimorfismos con un posible factor protector como es el TN-FR2-R196 que podría influir, por ejemplo, en las formas crípticas de la HSC<sup>31</sup>. Esto explicaría, en parte, la variabilidad fenotípica encontrada en los individuos afectados o en familiares analizados en los diferentes estudios: desde homocigotos o heterocigotos compuestos de variantes patogénicas de *CYP21A2* sin sintomatología a heterocigotos simples con hallazgos clínico-analíticos de hiperandrogenismo<sup>5, 22, 32,33</sup>.

Todo este trasfondo genético hace más difícil la categorización de los pacientes en fenotipos clásicos o no clásicos de la HSC así como portadores de la enfermedad versus sanos no afectados.

Como limitaciones de nuestro estudio mencionar el número de pacientes, que podría influir en el análisis comparativo del genotipo y, sobre todo, resultando una muestra pequeña los que llegan a talla adulta. Por otro lado, no existe grupo control con el que comparar nuestros resultados. Además, las variantes génicas estudiadas son las más frecuentes pero no se puede descartar que alguno de los pacientes no sea portador de otra variante rara, influyendo esto en el fenotipo.

Como conclusión, nuestra cohorte de pacientes portadores del déficit 21  $\alpha$ -hidroxilasa presenta hallazgos clínico-bioquímicos de hiperandrogenismo, sin afectación de la talla adulta en relación con su talla genética. Por todo lo mencionado anteriormente, los pacientes heterocigotos sintomáticos deberían ser susceptibles de un seguimiento endocrinológico y consejo genético. Los avances en genética molecular permitirán una mejor caracterización de éstos e ir avanzando en el conocimiento de las correlaciones genotipo-fenotipo.

## Conflictos de interés

Los autores declaran no haber conflicto de intereses en relación a este artículo.

## Referencias Bibliográficas

1. Speiser PW, White PC. Congenital adrenal hyperplasia. N Engl J Med 2003; 349: 776-788.
2. Krone N, Arlt W. Genetics of congenital adrenal hyperplasia. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2009; 23: 181-192.
3. Merke DP, Bornstein SR. Congenital adrenal hyperplasia. Lancet 2005; 365: 2125-2136.

4. Sofaer JA. Principles and practice of medical genetics. 2<sup>o</sup> ed. New York: Churchill Livingstone 1990; 121-132.
5. Bidet M, Bellanné-Chantelot C, Galand-Portier MB, Tardy V, Billaud L, Laborde K, et al. Clinical and molecular characterization of a cohort of 161 unrelated women with Nonclassical Congenital Adrenal Hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency and 330 family members. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 1570-1578.
6. Speiser PW, Arlt W, Auchus RJ, Baskin LS, Conway GS, Merke DP, et al. Congenital Adrenal Hyperplasia Due to Steroid 21-Hydroxylase Deficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2018; 103: 4043-4088.
7. Carrascosa A, Fernández JM, Fernández C, Fernández A, López-Siguero JP, Sánchez E, et al. Estudio transversal español de crecimiento 2008. Parte II: valores de talla, peso e índice de masa corporal desde el nacimiento a la talla adulta. *An Pediatr (Barc)*. 2008; 68:552-569
8. Hernández M, Castellet J, Narvaiza JL, Rincón JM, Ruiz I, Sánchez E, et al. Curvas y Tablas de Crecimiento. Instituto de investigación sobre crecimiento y desarrollo. Fundación F. Orbegozo. Ediciones Garsi, Madrid, 1988
9. Baumgartner-Parzer SM, Nowotny G, Heinze G, Waldhausl W, Vierhapper H. Carrier frequency of congenital adrenal hyperplasia (21-hydroxylase deficiency) in a middle european population. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 775-778.
10. Sánchez-Escudero V, González A, García B, Bezanilla C, Sentchordi L, Ceñal MJ, et al. Talla final en población pediátrica con la forma no clásica de hiperplasia suprarrenal congénita. *Rev Esp Endocrinol Pediatr* 2017;8(3):20-28. doi: <https://doi.org/10.3266/RevEspEndocrinolPediatr.pre2017.Nov.427>.
11. Paris F, Tardy V, Chalacon A, Picot MC, Morel Y, Sultan C. Premature pubarche in Mediterranean girls: high prevalence of heterozygous CYP21A2 mutation carriers. *Gynecol Endocrinol* 2010; 26: 319-324.
12. Binay C, Simsek E, Cilingir O, Yuksel Z, Kutlay O, Artan S. Prevalence of non classic congenital adrenal hyperplasia in Turkish children presenting with premature pubarche, hirsutism, or oligomenorrhoea. *Int J Endocrinol* 2014; Article ID 768506, 7 pages.
13. Neocleous V, Shammas C, Phedonos AP, Karaoli E, Kyriakou A, Toumba M et al. Genetic defects in the CYP21A2 gene in heterozygous girls with premature adrenarche and adolescents females with hyperandrogenemia. *Georg Med News* 2012; 9: 40-47.
14. Knochenhauer ES, Cortet-Rudelli C, Cunniham RD, Conway-Myers BA, Dewailly D Azziz R. Carriers of 21-hydroxylase deficiency are not at increased risk for hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82 (2): 479-485.
15. Carrascosa A, Yeste D, Moreno-Galdó A, Gussyné M, Ferrández A, Clemente M, et al. Crecimiento puberal de 1.453 niños sanos según la edad de inicio de la pubertad. Estudio longitudinal de Barcelona. *An Pediatr (Barc)* 2018; 89 (3): 144-152.
16. Cisternino M, Dondi E, Martinetti M, Lorini R, Salvaneschi L, Cuccia M, et al. Exaggerated 17-hydroxyprogesterone response to short-term adrenal stimulation and evidence for CYP21B gene point mutations in true precocious puberty. *Clin Endocrinol (Oxf.)* 1998; 48 (5): 555-560.
17. Peter M, Sippell G, Lorenzen F, Willig P, Westphal E, Grosse-Wild H. Improved test to identify heterozygotes for congenital adrenal hyperplasia without index case examination. *Lancet* 1990; 335: 1296-1299.
18. Glinborg D, Hermann P, Brusgaard K, Hangaard J, Hagen C, Andersen M. Significantly higher adrenocorticotropin-stimulated cortisol and 17-hydroxyprogesterone levels in 337 consecutive, premenopausal, Caucasian, hirsute patients compared with healthy controls. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90 (3): 1347-1353.
19. Napolitano E, Manieri C, Restivo F, Composto E, Lanfranco F, Repici M et al. Correlation between genotype and hormonal levels in heterozygous mutation carriers and non-carriers of 21-hydroxylase deficiency. *J Endocrinol Invest* 2011; 34: 498-501.
20. Alonso M, Ezquieta B. Hiperplasia suprarrenal congénita no clásica o tardía. *Rev Esp Endocrinol Pediatr* 2012; 3 (Suppl 1): 61-63. doi: <https://doi.org/10.3266/RevEspEndocrinolPediatr.pre2012.Apr.98>.
21. Kulle AE, Riepe FG, Hedderich J, Sipell WG, Schmitz J, Niermeyer L, et al. LC-MS/MS based determination of basal and ACTH-stimulated plasma concentrations of 11 steroid hormones: implications for detecting heterozygote CYP21A2 mutation carriers. *Eur J Endocrinol* 2015; 173: 517-524.

22. New MI, Abraham M, Gonzalez B, Dumic M, Razzaghy-Azar M, Chitayat D, et al. Genotype-phenotype correlation in 1,507 families with congenital adrenal hyperplasia owing to 21-hydroxylase deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110(7): 2611-2616.
23. Hannah-Shmouni F, Chen W, Merke DP. Genetics of congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2017; 46 (2): 435-458.
24. Skordis N, Shammas C, Hedonos A, Kyriakou A, Toumba M, Neocleous V, et al. Genetic defects of the CYP21A2 gene in girls with premature adrenarche. *J Endocrinol Invest* 2015; 38 (5):535-539 .
25. Concolino P, Costella A. Congenital Adrenal Hyperplasia (CAH) due to 21-Hydroxylase Deficiency: a comprehensive focus on 233 pathogenic variants of CYP21A2 Gene. *Mol Diagn Ther* 2018; 22 (3): 261-280
26. Ezquieta B. Insuficiencia suprarrenal de origen genético. *Rev Esp Endocrinol Pediatr* 2010; 1: 19-32. doi: <https://doi.org/10.3266/RevEspEndocrinologPediatr.pre2010.Nov.9>.
27. Neocleous V, Shammas C, Phedonos AA, Phylactou LA, Skordis N. Phenotypic variability of hyperandrogenemia in females heterozygous for CYP21A2 mutations. *Indian J Endocrinol Metab* 2014; 18: 72-79.
28. Neocleous V, Fanis P, Toumba M, Phedonos AA, Picolos M, Andreou E, et al. Variations in the 3'UTR of the CYP21A2 gene in heterozygous females with hyperandrogenaemia. *Int J Endocrinol* 2017; 8984365. doi: <https://doi.org/10.1155/2017/8984365>. Epub 2017 Apr 12.
29. Moura-Massari VO, Cunha FS, Gomes LG, Bugano Diniz Gomes D, Marcondes JA, Madureira G, et al. The presence of clitoromegaly in the nonclassical form of 21-hydroxylase deficiency could be partially modulated by the CAG polymorphic tract of the androgen receptor gene. *PLoS One* 2016; 11(2):eo148548.
30. Witchel SF, Bramidipati DK, Hoffman EP. Phenotypic heterogeneity associated with the splicing mutation in congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 4081-4088.
31. Ezquieta B, Oyarzabal M, Barrio R, Luzuriaga C, Hermoso F, Lechuga JL et al. Monogenic and polygenic models detected in steroid 21-hydroxylase deficiency-related paediatric hyperandrogenism. *Horm Res* 2009; 71:28-37
32. Anastasovska V, Kocova M. Detected heterozygotes during the molecular analysis of the common CYP21A2 point mutations in macedonian patients with congenital adrenal hyperplasia and their relatives. *Prilozi* 2010;31(2):71-82.
33. Hannah-Shmouni F, Morissette R, Sinaii N, Elman M, Prezant TR, Chen Wuyan et al. Revisiting the prevalence of nonclassic congenital adrenal hyperplasia in US Ashkenazi Jews and Caucasians. *Genet Med* 2017; 19 (11): 1276-1279.