

Utilidad del análisis molecular en el diagnóstico diferencial del déficit congénito de 21-hidroxilasa detectado en el cribado neonatal

Usefulness of molecular analysis in the differential diagnosis of congenital 21-hydroxylase deficiency detected in neonatal screening

Sr. Editor:

En muchas ocasiones, los datos clínicos y bioquímicos no permiten diferenciar al recién nacido 46XY que presenta un déficit de 21-hidroxilasa en su forma clásica virilizante simple o en la forma no clásica, aunque ambas situaciones requerirán un planteamiento clínico y terapéutico rigurosamente distinto¹⁻³. Así, en este tipo de pacientes, la realización de un genotipado ayudaría al diagnóstico diferencial⁴.

Recién nacido varón de 20 días de vida que presentó positividad del cribado metabólico de hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) (17-OH-progesterona superior a 20 ng/ml o a 60 nmol/l), sin antecedentes familiares y perinatales de interés, con la siguiente exploración: peso de 3.550 g (percentil [P] 10-25), talla de 51 cm (P10-25), normotenso y pene de 4×1 cm con testes en bolsas de 2 ml de Prader. Destacaba la presencia de hiperpigmentación escrotal, sin vello púbico. El estudio hormonal mostró los siguientes datos: 17-OH-progesterona de 44,10 ng/ml (valores normales [VN] <1,4), hormona adrenocorticotropa (ACTH) de 86 pg/ml (VN<55), testosterona de 1,1 ng/ml (VN<0,5), y delta 4 androstendiona de 95 ng/dl (VN<20). Asimismo, se determinaron renina, aldosterona, ionograma y gasometría venosa, que fueron normales. Ante la sospecha clínica de un déficit de 21-hidroxilasa forma virilizante simple se decide iniciar tratamiento con hidrocortisona oral a 8 mg/m²/día, que normaliza los valores de 17-OH-progesterona 4 meses después.

El estudio molecular mostró que el paciente es portador de una mutación grave que afecta al procesamiento de ácido ribonucleico mensajero, 655G del intrón 2 (g.655A/C>G), y se descarta el resto de mutaciones graves y leves recurrentes⁵⁻⁷. La mutación 655G, presente en el alelo materno, se ha heredado también por el hermano sano del paciente (fig. 1). El padre presenta la mutación leve p.V281L. El alelo portador de esta variante leve, extraordinariamente frecuente en España⁸, no se encuentra presente en ninguno de los hijos, que sí habían heredado el segundo alelo paterno. El estudio complementario indirecto de segregación mediante marcadores tipo microsatélite (fig. 1) confirma este dato e indica que los 2 hermanos habían heredado los mismos alelos del gen CYP21A2. Los datos del estudio molecular, en conjunto, se informaron como fuertemente compatibles con una situación de portador y descartaban una forma clásica en el paciente. Sin embargo, los datos clínicos y bioquímicos del paciente parecían seguir indicando la existencia de déficit, por lo que se procedió a realizar el estudio complementario de secuenciación directa de CYP21A2. Este análisis documentó la presencia de la mutación grave ya informada y detectó una variante de cambio de aminoácido p.W22C no descrita previamente. Esta variante segrega en el alelo paterno y, de tratarse del alelo 21-OH deficiente, daría lugar a una heterocigosis compuesta [p.W22C]+[g.655G] en el paciente y en su hermano (el estudio de segregación en padre, madre y hermano se muestra en la figura 1). En el caso del padre, la nueva variante se encontraba en heterocigosis compuesta con el alelo leve [p.V281L]+[p.W22C]. Por todo esto, se decide realizar test de ACTH al caso índice, a su padre y a su hermano. Asimismo, a la madre se le determina 17-OH-progesterona basal que fue normal. En ninguno de los 3 familiares en que esta variante se encontró en heterocigosis compuesta con

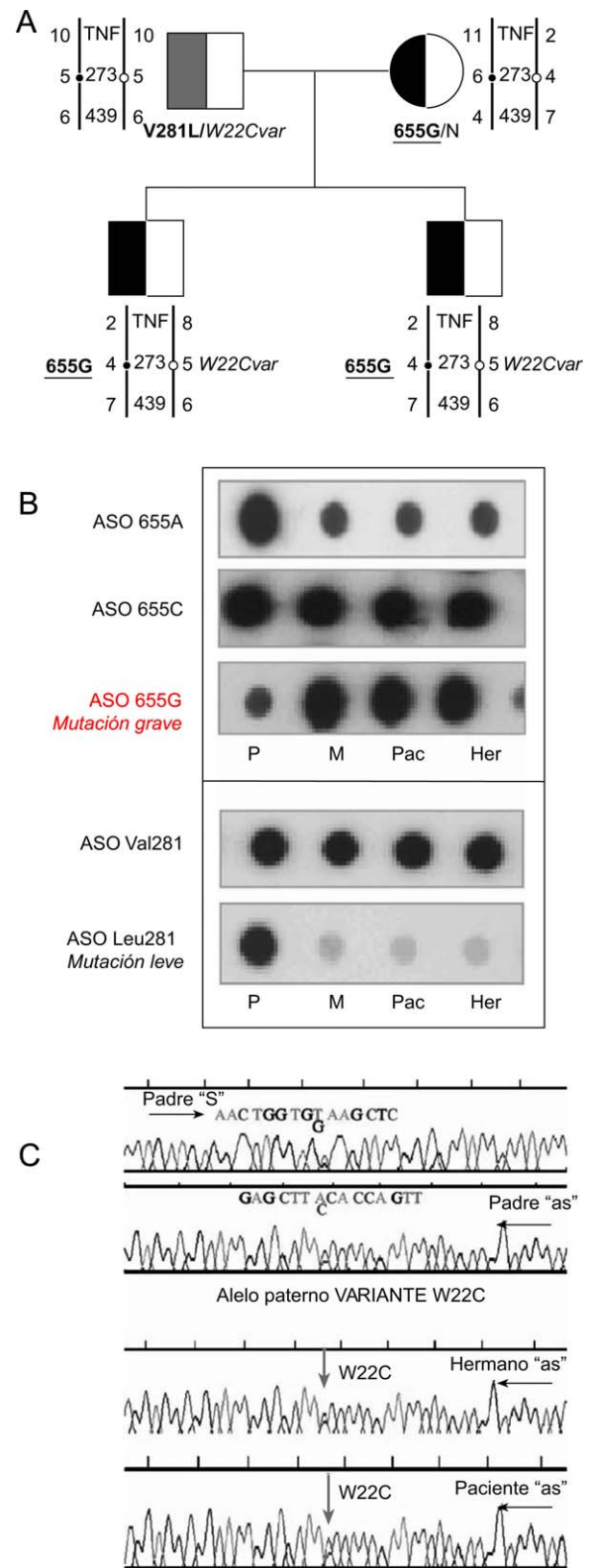


Figura 1. Estudio molecular del gen de la esteroide 21-hidroxilasa. A) Árbol familiar en que se muestra la segregación de alelos sobre un esquema del cromosoma 6p orientado telómero-arriba a centrómero-abajo. El paciente muestra en su alelo materno la mutación grave 655G del intrón 2 (g.655A/C>G) en heterocigosis con el alelo normal (variante 655C). El hermano del paciente es genotípicamente idéntico en lo que se refiere al gen 21OH. B) Hibridaciones específicas de alelo del cribado básico de mutaciones recurrentes mediante la utilización de oligonucleótidos con marcaje no isotópico que mostraron positividad para la secuencia mutada. C) Estudio complementario de secuenciación que detecta en el alelo paterno heredado por ambos hijos la variante p.W22C.

mutación grave (paciente y hermano) o leve (padre), el marcador metabólico de la deficiencia (pico de 17-OH-progesterona tras ACTH) superó el dintel diagnóstico para la forma no clásica del déficit⁹ (caso índice: 12 ng/ml; padre: 10,02 ng/ml; hermano: 11,98 ng/ml). Por tanto, los datos genéticos y las actuales variables clinicobiológicas seguían siendo compatibles con el diagnóstico de situación de portador de déficit de 21-OH, motivo por el que se suspendió el tratamiento con corticoides a los 6 meses de vida. Así, controles posteriores han mostrado cifras de 17-OH-progesterona dentro de la normalidad sin observar aceleración de la velocidad de crecimiento.

En varones con sospecha de déficit de 21-OH en los que no se ha desarrollado un síndrome pierde sal y que tampoco muestran signos de virilización extrema, se plantea el diagnóstico diferencial entre la forma clásica virilizante simple y la forma no clásica o de presentación tardía¹⁻³. En este caso, se decidió iniciar tratamiento con hidrocortisona ante los datos clínicos y bioquímicos indicativos de una forma virilizante simple, pero indudablemente, también hubiera sido una opción razonable no haber iniciado tratamiento médico alguno en espera del resultado del estudio genético. La confirmación de la presencia de la alteración p.W22C en el caso índice y en el hermano indicó que se trataba de una variante polimórfica por 2 motivos: a) evolución clínica asintomática del hermano mayor, y b) valores de 17-OH-progesterona tras estímulo en el rango de sujetos portadores. No obstante, no se puede excluir totalmente una forma leve hasta que la pubertad se haya completado, sí quedó descartada una forma clásica de la deficiencia.

Los estudios de segregación en la familia resultan de ayuda en la interpretación de nuevas variantes, especialmente si las decisiones clínicas no permiten esperar a estudios *in vitro*, más lentos y complejos, como ocurre en las sospechas neonatales. Los estudios dirigidos a variantes de documentada implicación fenotípica facilitan la interpretación clínica de los resultados. Sólo un pequeño porcentaje (del 3 al 5%) de alelos clásicos graves pierde sal muestran variantes raras (no incluidas en el cribado básico) que se detectan por secuenciación complementaria, y éstas son en su mayoría codones de parada y desplazamientos de la fase de lectura que generarían proteínas truncadas. Estas variantes raras, que también incluyen cambios de aminoácido, muestran cierta recurrencia y en la actualidad se dispone, para la mayoría de ellas, de estudios que documentan la causalidad del alelo mutado¹⁰.

Finalmente, se quiere reseñar la importancia de utilizar el genotipado CYP21A2 como herramienta de segundo grado para el cribado neonatal⁴, ya que resultaría de enorme utilidad tanto para

doi:10.1016/j.medcli.2009.06.008

los neonatos que presentan HSC como para los que presentan elevaciones transitorias de 17-OH-progesterona (falsos positivos).

Financiación

Begoña Ezquieta ha recibido financiación del Fondo de Investigaciones Sanitarias (PI 061179).

Bibliografía

1. Soriano-Guillén L, Velázquez de Cuellar Paracchi M. Hiperplasia suprarrenal congénita. *Pediatr Integral*. 2007;11:601-10.
2. Forest MG. Recent advances in the diagnosis and management of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Hum Reprod Update*. 2004;10:469-85.
3. New MI. Nonclassical 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:4205-14.
4. Therrell BL. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinol Metab Clin North*. 2001;30:15-30.
5. Ezquieta B, Varela JM, Jariego C, Oliver A, Gracia R. Nonisotopic detection of point mutations in the CYP21B gene in 21-hydroxylase deficiency. *Clin Chem*. 1996;42:1108-10.
6. Ezquieta B, Jariego C, Varela JM, Oliver A, Gracia R. Microsatellite typing in the indirect analysis of the steroid 21-hydroxylase gene. *Prenat Diagn*. 1997;17:429-34.
7. Ezquieta B, Beneyto M, Munoz-Pacheco R, Barrio R, Oyarzabal M, Lechuga JL, et al. Gene duplications in 21-hydroxylase deficiency: The importance of accurate molecular diagnosis in carrier detection and prenatal diagnosis. *Prenat Diagn*. 2006;26:1172-8.
8. Ezquieta B, Ruano ML, Dulín E, Arnao DR, Rodríguez A. Prevalence of frequent recessive diseases in the Spanish population through DNA analyses on samples from the neonatal screening. *Med Clin*. 2005;125:493-5.
9. Ezquieta B, Cueva E, Varela J, Oliver A, Fernández J, Jariego C. 2002. Nonclassical 21-hydroxylase deficiency in children: Association of ACTH-stimulated 17OH progesterone with risk for compound heterozygosity for severe mutations. *Acta Paediatr*. 2002;91:892-8.
10. The Human Gene Mutation Database at the Institute of Medical Genetics in Cardiff. Disponible en: URL: www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php.

Leandro Soriano Guillén^{a,b,*}, María Velázquez De Cuellar Paracchi^b y Begoña Ezquieta^{c,d}

^aUnidad de Endocrinología Infantil, Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España

^bServicio de Pediatría, Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España

^cLaboratorio de Diagnóstico Molecular, Hospital Universitario Infantil Gregorio Marañón, Madrid, España

^dCentro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: lsoriano@fjd.es, leansor4@hotmail.com (L. Soriano Guillén).

Dependencia funcional del paciente y malestar emocional del cuidador en una unidad de cuidados paliativos

Patients' functional status and caregiver distress at the palliative care unit

Dentro del programa asistencial en cuidados paliativos se incluye la atención a la familia como elemento de soporte en el tratamiento integral del paciente, de acuerdo con las indicaciones de la Organización Mundial de la Salud¹. Generalmente, en la familia es donde puede encontrarse al cuidador principal del paciente paliativo. Algunos estudios señalan que el malestar emocional del cuidador del paciente con una enfermedad oncológica avanzada, aumenta en concordancia al progresivo

deterioro en la capacidad funcional que experimenta el paciente². El deterioro físico que acompaña a la progresión de la enfermedad avanzada, puede servir al cuidador como una señal del acercamiento del momento de pérdida. En algunos estudios llegan a encontrar una asociación, mediada por otras variables, entre la sintomatología depresiva del cuidador y la pérdida de funcionalidad en las actividades de la vida diaria del paciente³. Además, es la sintomatología depresiva la que ayuda a predecir de forma significativa el valor de sobrecarga subjetiva del cuidador⁴.

El objetivo de este estudio es evaluar en qué medida la dependencia funcional del paciente al ingreso en la unidad de cuidados paliativos determina el malestar emocional y el grado de sobrecarga subjetiva del cuidador. Se trata de un estudio *ex post facto* retrospectivo simple, realizado en la unidad de cuidados