

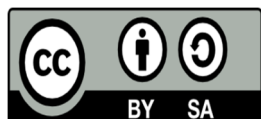
Segovia, Darío

Hiperplasia suprarrenal congénita. Porcentaje de casos confirmados derivados por el programa de pesquisa

2020

Instituto: Ciencias de la Salud

Carrera: Bioquímica



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Argentina.
Atribución - Compartir igual 4.0
<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>

Documento descargado de RID - UNAJ Repositorio Institucional Digital de la Universidad Nacional Arturo Jauretche

Cita recomendada:

Segovia, D. (2020) *Hiperplasia suprarrenal congénita. Porcentaje de casos confirmados derivados por el programa de pesquisa* [tesis de grado Universidad Nacional Arturo Jauretche]

Disponible en RID - UNAJ Repositorio Institucional Digital UNAJ <https://biblioteca.unaj.edu.ar/rid-unaj-repositorio-institucional-digital-unaj>



Universidad Nacional
ARTURO JAURETCHE

TRABAJO FINAL:

***HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA.
PORCENTAJE DE CASOS CONFIRMADOS
DERIVADOS POR EL PROGRAMA DE
PESQUISA.***

UNIVERSIDAD NACIONAL ARTURO JAURETCHE

INSTITUTO DE SALUD

BIOQUIMICA

AUTOR: DARIO SEGOVIA

DIRECTORES DE TESINA: ANDREA TOURNIER

CO DIRECTORA DE TESINA: ALEJANDRA MARIANELLI

FECHA DE ENTREGA: 06/11/2020

RESUMEN

Introducción:

La Hiperplasia Suprarrenal Congénita (HSC) es la situación clínica resultante de deficiencias enzimáticas en la corteza suprarrenal. El déficit de 21 α -Hidroxilasa es el más frecuente, ocasionando el incremento de la 17 α -Hidroxiprogesterona. La HSC afecta a los neonatos, en las niñas podrá provocar ambigüedad genital y en los varones signos de sobrevirilización y en ambos sexos se acompañará de insuficiencia corticoidea, con o sin insuficiencia mineralocorticoidea, dependiendo del tipo de mutación. En el último caso la pérdida de sales por orina puede causar la muerte, es por ello que se debe detectar y tratar oportunamente. En consecuencia se la ha implementado en el programa de pesquisa neonatal de la provincia de Buenos Aires, PRODYTEC (Programa de Diagnóstico y Tratamientos de enfermedades congénitas) en el año 2008 por la ley 13905.

Objetivo:

Establecer el porcentaje de casos confirmados como HSC con pesquisa positiva.

Establecer porcentajes de casos confirmados en ambos sexos y analizar si existe alguna prevalencia según sexo.

Comparar datos obtenidos con la bibliografía.

Materiales y Métodos:

Todos los recién nacidos con pesquisa neonatal positiva provenientes del Laboratorio de Detección de Errores Congénitos de la Fundación Bioquímica Argentina, en el periodo de enero 2017 – octubre 2018. Utilizando criterios de exclusión por ejemplo, pacientes que por diversos motivos realizaron la confirmación en otro centro de salud. De un total de 103, se excluyeron 14 pacientes, quedando de este modo un $n = 89$. A partir de estos valores se calculó el VPP de la pesquisa de HSC.

Conclusión:

Se obtuvo un Valor Predictivo Positivo (VPP) bajo (15.73% de casos confirmados) como se espera de una enfermedad relativamente poco frecuente, coincidente con la bibliografía, y que está relacionado con un porcentaje alto de falsos positivos. Además se comprobó que no existe prevalencia según sexo.

INDICE

INTRODUCCION GENERAL.....	4
INTRODUCCION ESPECIFICA	5
ANATOMIA DE LA GLANDULAR SUPRARRENAL.....	5
FISIOLOGIA DE LA CORTEZA SUPRARRENAL.....	7
REGULACION DE LA CORTEZA SUPRARRENAL.....	9
ESTEROIDOGENESIS.....	10
HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGENITA.....	12
PRODYTEC.....	14
PESQUISA.....	16
RADIOINMUNOENSAYO (RIA) DE 17OH-PROGESTERONA.....	17
OBJETIVO:	18
MATERIALES Y METODO:	19
RESULTADOS:	20
DISCUSION.....	24
CONCLUSION.....	25
BIBLIOGRAFIA.....	26
ANEXO I	
ANEXO II	

INTRODUCCION

La hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) es un trastorno metabólico hereditario, que afecta la glándula suprarrenal, que tiene como consecuencia insuficiencia en la producción de hormonas suprarrenales o alteraciones en la actividad de las enzimas esteroideogénicas (Kumar et al, 2010);¹ afectando así al eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal, el cual se rige por un mecanismo de retroalimentación negativa. Este eje se basa en que el último producto, inhibirá al primero de esta cadena. Una falla de la producción del último producto, en este caso cortisol, no ejercerá el efecto negativo en el hipotálamo (Gardner y Shoback, 2012)². Por lo tanto no habrá inhibición de hormona liberadora de corticotropina (CRH), hormona producida por el hipotálamo y no habrá inhibición a su vez de hormona adrenocorticotrófica (ACTH), hormona trófica producida por la hipófisis, que determinara el crecimiento del órgano diana, en este caso la glándula suprarrenal, produciendo así la hiperplasia del mismo. Una de las variantes más severas de este trastorno es la virilizante y perdedora de sal. Esta afecta a los neonatos y causa la pérdida de sales por orina y puede causar la muerte, entre otras sintomatologías que son de largo plazo, es por ello que se debe detectar y tratar a tiempo. (Kronenberg et al, 2009).³ En consecuencia se la ha implementado en el Programa de Diagnóstico y Tratamientos de enfermedades congénitas (PRODYTEC) de la provincia de Buenos Aires en el año 2008 por la ley 13905; esta ley contempla la pesquisa, confirmación, tratamiento y seguimiento de las enfermedades de: hipotiroidismo congénito, galactosemia, deficiencia de biotinidasa, hiperplasia suprarrenal congénita, fibrosis quística, enfermedad de jarabe de arce y una enfermedad no metabólica como la retinopatía del prematuro. (<http://www.ms.gba.gov.ar/sitios/prodytec/>)⁴

INTRODUCCION ESPECÍFICA

ANATOMIA

Las glándulas suprarrenales, son 2 órganos con forma piramidal, con un peso combinado de 8 a 10 gramos aproximadamente, ubicados anatómicamente en la cavidad retroperitoneal, sobre ambos riñones. En cada una se distinguen 2 macroestructuras: la corteza suprarrenal que comprende el 90% y la medula adrenal que comprende el 10%. (Gardner y Shoback, 2012)⁵. (Ver figura N°1)⁶

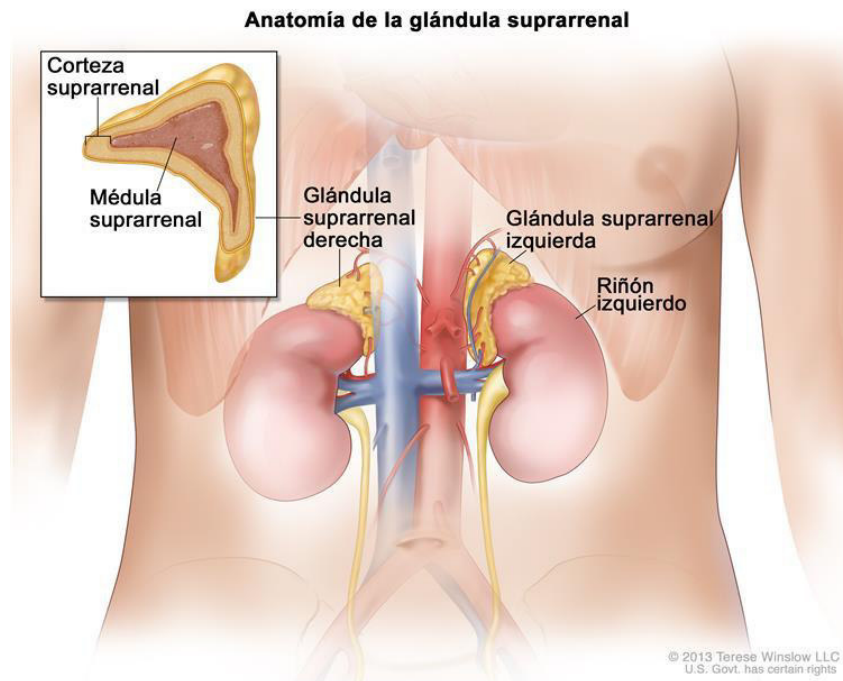


Figura N°1. *Nota.* Adaptado de anatomía de la glándula suprarrenal [imagen] Terese Winslow, 2013. <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/glandula-suprarrenal>

La corteza tiene un origen embriológico del mesodermo, de una línea celular única caracterizada por la expresión de ciertos factores de transcripción, como el factor esteroideogénico-1 (SF-1). (Gardner y Shoback, 2012)⁷

Se pueden reconocer 3 estructuras histológicas, la zona glomerulosa, la zona fascicular y la zona reticular (Ver figura N°2)⁹. Cada una de ellas está encargada de producir distintas hormonas, mineralocorticoides, glucocorticoides y andrógenos respectivamente. Todas estas hormonas tienen en común el mismo precursor, el colesterol. Por otro lado la medula adrenal tiene un origen

embriológico distinto a la corteza, en ella se produce noradrenalina y adrenalina. (Silverthorn, 2007)⁸

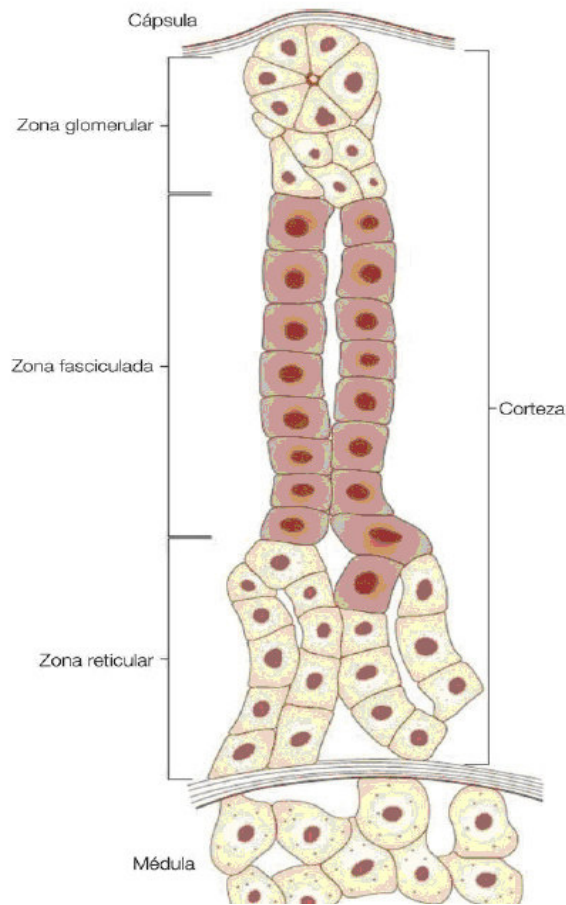


Figura N°2 Nota. Adaptado de Willians tratado de endocrinología (p. 455), por Kronenberg et al., 2009 Editorial Elsevier.

FISIOLOGIA DE LA CORTEZA SUPRARRENAL

Las hormonas de la corteza tienen distintas funciones en el cuerpo. La secreción de los mineralocorticoides tiene la función de regular los minerales, como sodio(Na), potasio(K) y en consecuencia el agua corporal en la formación de orina. Las hormonas que secreta principalmente la zona glomerulosa son la aldosterona y la 11-desoxicorticosterona, aunque la secreción de aldosterona es la mayoritaria y de mayor efecto. Esta tiene como función la retención de sodio en los túbulos colectores, mediante el aumento de la permeabilidad en las membranas del túbulo, aumentando los canales de sodio, también estimula la síntesis del canal. El pasaje de Na se debe a bombas Na/K que mantienen el gradiente a favor del ingreso de sodio al cuerpo. La secreción de aldosterona, está regulada por el Sistema renina-angiotensina-aldosterona, a diferencia de las hormonas secretadas por la zona fascicular y reticular que se rigen por el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal.

Las hormonas glucocorticoides producidas por la zona fascicular son principalmente el cortisol y la corticosterona y se secretan en episodios circadianos. Sin embargo el cortisol es la principal hormona secretada, además su efecto es más fuerte y duradero que el de la corticosterona. El cortisol tiene un abanico importante de acciones, sobre metabolismo de hidratos de carbono, proteínas, lípidos; como también sobre los sistemas inmunológicos, la piel, tejido muscular, tejido conjuntivo, huesos, metabolismo de calcio, homeostasis hídrica, control de presión arterial, control de sales, sistema nervioso central, crecimiento y desarrollo, intestino y el propio sistema endocrino. Como ya se mencionó esta hormona, como los andrógenos producidos por la zona reticular está regulada por el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal. (Ver figura N°3) ¹⁰

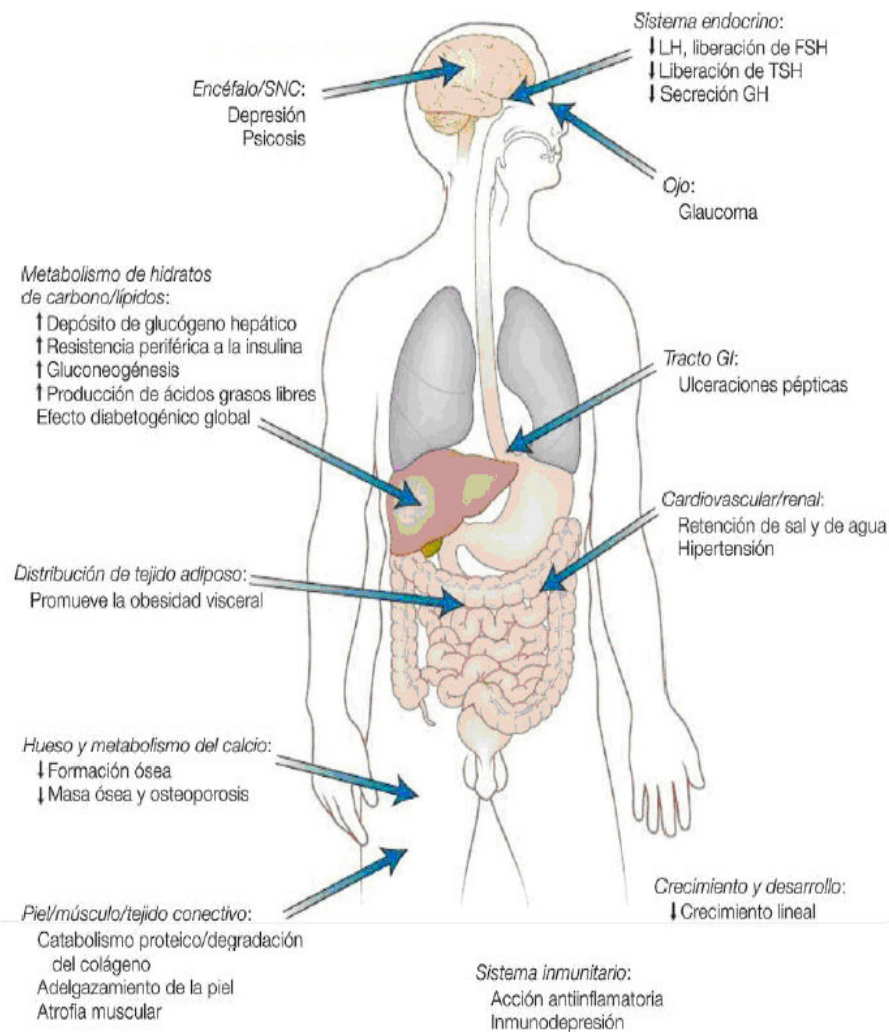


FIGURA N°3. Nota. Adaptado de Willians tratado de endocrinología (p. 465), por Kronenberg et al., 2009 Editorial Elsevier.

Las hormonas androgénicas producidas por la zona reticular de la corteza suprarrenal: la DHEA, DHEAS y la androstenodiona son de baja potencia comparadas con las hormonas producidas por los testículos, pero en patologías como HSC pueden producir pubertad precoz, y disminución en la talla final del individuo debido al cierre de las placas epifisarias de los huesos largos que producen estas hormonas. Por otro lado en la mujer tiene mayor importancia ya que son las hormonas virilizantes, si se encuentran en exceso. . (Silverthorn, 2007)₈

REGULACION DE LA CORTEZA SUPRARRENAL

La regulación de la corteza suprarrenal viene dada por el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal, con un mecanismo de retroalimentación negativa. Desde el hipotálamo, se secreta a la sangre CRH en respuesta a la baja de cortisol en sangre. El cortisol funciona como señal de estímulo, para iniciar la estimulación del eje, una vez que los niveles de cortisol se hayan reestablecido disminuirá al mínimo la secreción de la CRH. Esta hormona tiene como tejido diana la hipófisis, su acción consiste en estimular la secreción de ACTH de la adenohipofisis. Aquí también como en el hipotálamo los niveles de cortisol estimularan la secreción, como así la inhibición dependiendo de los niveles en sangre. La ACTH es la hormona que estimulara a la corteza suprarrenal en su producción de cortisol y andrógenos principalmente, la aldosterona no se ve afectada por este eje, ya que se rige por el eje renina-angiotensina-aldosterona, que responde a los niveles de sodio y potasio en sangre. La ACTH además es una hormona trófica, es decir que su producción determinara el tamaño de la glándula. Finalmente la producción de cortisol será quien ejerza el efecto inhibitorio en el hipotálamo e hipófisis, problemas en la producción de cortisol afectara al eje, ya que no habrá señal que inhiba las hormonas que estimulan a la corteza suprarrenal, produciendo la hiperplasia del órgano. En casos de administración exógena de glucocorticoides exógenos o tratamientos con ellos de forma prolongada, el eje no producirá CRH, ni ACTH, por lo que al retirar los corticoides el eje estará apagado, y le llevara unas semanas reestablecerse, es por ello que en esos casos se debe quitar gradualmente los corticoides así se le da tiempo a restablecer el eje. . (Silverthorn, 2007)⁸. (Ver figura N°4)¹¹

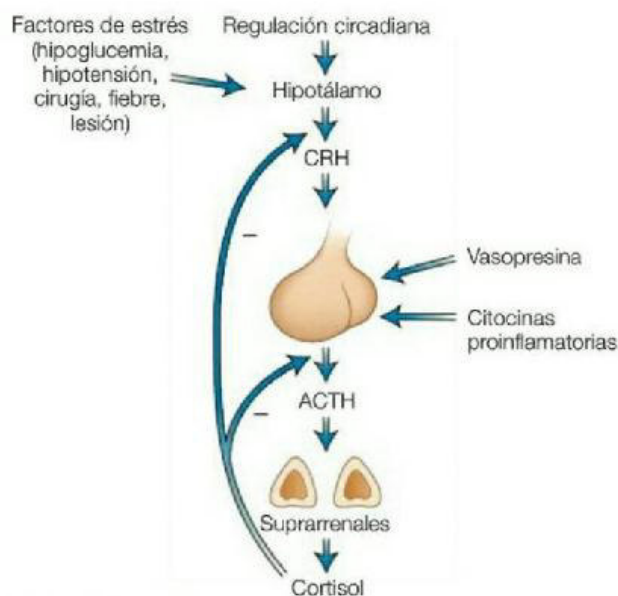


FIGURA N°4. Nota. Adaptado de Willians tratado de endocrinología (p. 458), por Kronenberg et al., 2009 Editorial Elsevier.

ESTEROIDOGENESIS

El precursor de las hormonas esteroideas es el colesterol. La mayor parte (80%) de dicho colesterol proviene de lipoproteínas de baja densidad (LDL). La captación se realiza por los receptores específicos de las LDL en la superficie celular presentes en el tejido suprarrenal (Gardner y Shoback. (2012)¹². Para que después continúe una vía explicada por Kronenberg et al. (2009)¹³, de la siguiente forma:

A continuación, las LDL son internalizadas por endocitosis mediada por los receptores. Las vesículas resultantes se fusionan con lisozimas y se produce colesterol libre después de sufrir hidrólisis. Sin embargo, está claro que ésta no puede ser la única fuente de colesterol suprarrenal. ... El colesterol también puede generarse de Novo en la corteza suprarrenal a partir de la acetil-coenzima A. Además, existen evidencias de que la suprarrenal puede utilizar el colesterol HDL tras la captación mediante el receptor putativo de las HDL recientemente caracterizado SR-B1. ...

La etapa inicial limitante de la velocidad y dependiente de hormonas es el transporte de colesterol intracelular a partir de la membrana mitocondrial externa a la interna para su conversión en pregnenolona por el citocromo P450_{scc}. Experimentos en seres humanos han confirmado la importancia de una proteína de 30 kDa, la proteína reguladora de la esteroidogénesis aguda (StAR), en la mediación de este efecto. La StAR es inducida por un aumento en el monofosfato de adenosina cíclico intracelular después de la fijación de la ACTH a su receptor cognato, aportando la primera etapa importante limitante de la velocidad en la esteroidogénesis suprarrenal. ...

La esteroidogénesis supone la acción concertada de varias enzimas, incluyendo enzimas del citocromo P450...La enzima del desdoblamiento de la cadena lateral del colesterol y las enzimas CYP11B se localizan en las mitocondrias, y requieren un sistema de transferencia de electrones, proporcionado por medio de una adrenodoxín-adrenodoxín reductasa, para oxidar e hidroxilar esteroides. La 17 α -hidroxilasa y la 21-hidroxilasa están localizadas en la fracción microsomal/RE y requieren de la transferencia de electrones del NADPH por la enzima P450 oxidorreductasa (P450 OR). Además, la actividad 17,20-liasa de la P450 CYP17 depende de una flavoproteína b5 que funciona como un facilitador alostérico de la interacción de CYP17 y de P450 OR. ... Después de la captación del colesterol en la mitocondria se desdobra el colesterol por la acción de la enzima de desdoblamiento de la cadena lateral del colesterol P450 para formar pregnenolona. En el citoplasma, la pregnenolona se convierte en progesterona por la isoenzima de tipo II de la 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 β -HSD) por una reacción que implica la deshidrogenación del

grupo 3-hidroxilo y la isomerización del doble enlace en C5. La progesterona es hidroxilada a 17-OHP por medio de la actividad de la CYP 17 α -hidroxilasa. La 17-hidroxilación es un prerequisite para la síntesis de glucocorticoides y la zona glomerular no expresa 17-hidroxilasa. La CYP17 posee también actividad 17,20-liasa, que da lugar a la producción de andrógenos suprarrenales C19, deshidroepiandrosterona (DHEA) y androstenediona. En los humanos, no obstante, la 17-OHP no es un sustrato eficiente para la CYP17 y hay una conversión casi despreciable de 17-OHP a androstenediona. La secreción suprarrenal de androstenediona depende de la conversión de DHEA a androstenediona por la 3 β -HSD. Esta enzima convierte también la 17-hidroxipregnenolona a 17-OHP, pero el sustrato preferido es la pregnenolona.

La 21-hidroxilación tanto de progesterona (zona glomerular) como de 17-OHP (zona fasciculada) se lleva a cabo por el producto del gen *CYP21A2*, 21-hidroxilasa, para producir DOC o 11-desoxicortisol, respectivamente. La etapa final en la biosíntesis de cortisol tiene lugar en las mitocondrias e implica la conversión del 11-desoxicortisol a cortisol por la enzima CYP11B1, 11 β -hidroxilasa. En la zona glomerular, la 11beta-hidroxilasa puede convertir también la DOC a corticosterona. Sin embargo, la enzima CYP11B2 o aldosterona sintasa también puede llevar a cabo esta reacción y, además, se requiere para la conversión de corticosterona en aldosterona a través del paso intermedio a 18-OH corticosterona. Así, la CYP11B2 puede llevar a cabo las reacciones de 11 β -hidroxilación, 18-hidroxilación y 18-metil oxidación para conseguirla estructura hemiacetal C11-18 característica de la aldosterona. (pp 455-456). (Ver figura N°5) ¹⁴

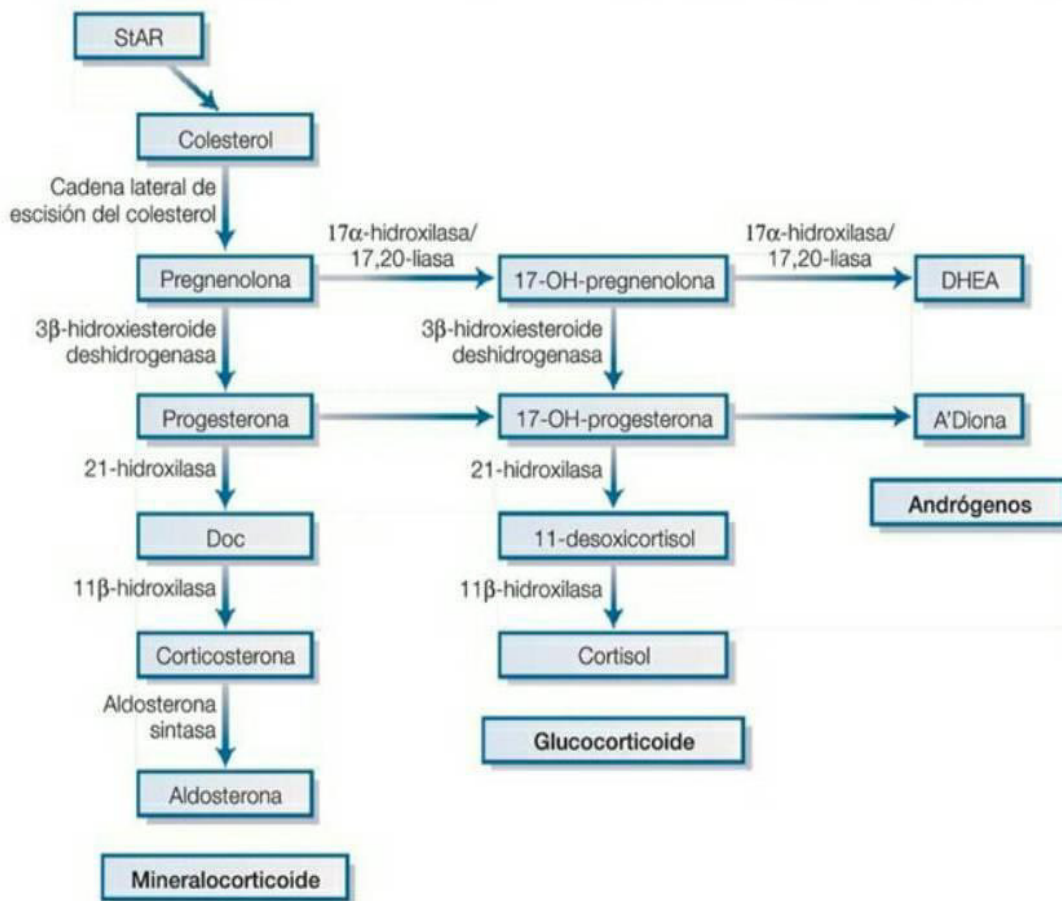


FIGURA N°5. Nota. Adaptado de Willians tratado de endocrinología (p. 457), por Kronenberg et al., 2009 Editorial Elsevier.

HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA

La hiperplasia es el aumento de tamaño del tejido debido al aumento de células que lo componen, en este caso las glándulas suprarrenales se verán afectadas por el exceso de ACTH que sobreestímula el tejido aumentando el número de células que lo componen. Como ya se mencionó este síndrome se basa en el déficit de producir cortisol, debido a una mutación en una de las enzimas que componen la estereodogénesis. Dado que existen muchas enzimas involucradas en la formación, nos centraremos en la forma que tiene la mayor incidencia y mortalidad en la población, la forma clásica, la HSC virilizante y perdedora de sal (Kumar et al, 2010)¹⁵

Como lo explica Kronenberg et al (2009)¹⁶, en su libro:

El 90% de casos de hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) se deben a déficit de 21-hidroxilasa. En las sociedades occidentales, la incidencia varía entre uno por 5.000 y uno por 15.000 nacidos vivos, pero en comunidades aisladas la incidencia puede ser muy superior... La afección surge como consecuencia de una conversión defectuosa de la 17 α -hidroxiprogesterona a 11-desoxicortisol. La menor biosíntesis de cortisol da lugar a un menor impulso en la retroalimentación negativa y a un aumento en la secreción de ACTH. Como consecuencia hay una producción excesiva de andrógenos por la suprarrenal. El 75% de casos presentan déficit de mineralocorticoides debido a un fracaso en la conversión de la progesterona a DOC en la zona glomerular. Clínicamente se han reconocido diversas variantes diferenciadas del déficit de 21-hidroxilasa. (Ver figura N°6)¹⁷

El mayor estímulo de ACTH sobre la secreción androgénica por la suprarrenal en el útero conduce a virilización en el feto femenino afectado. Dependiendo de la intensidad, puede producirse un agrandamiento del clítoris, fusión labial y desarrollo de un seno urogenital, lo que lleva a ambigüedad genital en el nacimiento e incluso a una asignación errónea del sexo. Los niños son fenotípicamente normales en el momento de nacer, y tienen riesgo de no diagnosticarse... Estos pacientes pueden tener, en la primera fase de la infancia, precocidad sexual y desarrollo del vello púbico. Inicialmente, se produce una aceleración del crecimiento longitudinal debido a un exceso prematuro de andrógenos, pero si se deja sin tratar se produce una estimulación del cierre epifisario y la altura final adulta se halla invariablemente disminuida.

El 75% de casos en ambos sexos tienen también déficit concomitante de aldosterona. Además de las características anteriormente reseñadas, los neonatos pueden presentar en la primera semana de vida una crisis con pérdida de sal e hipotensión. En efecto, este hecho puede alertar al médico sobre el

diagnóstico en un chico, pero lamentablemente el diagnóstico se retrasa aún en muchos casos y la afección comporta una tasa de mortalidad neonatal significativa. (pp 494-495).

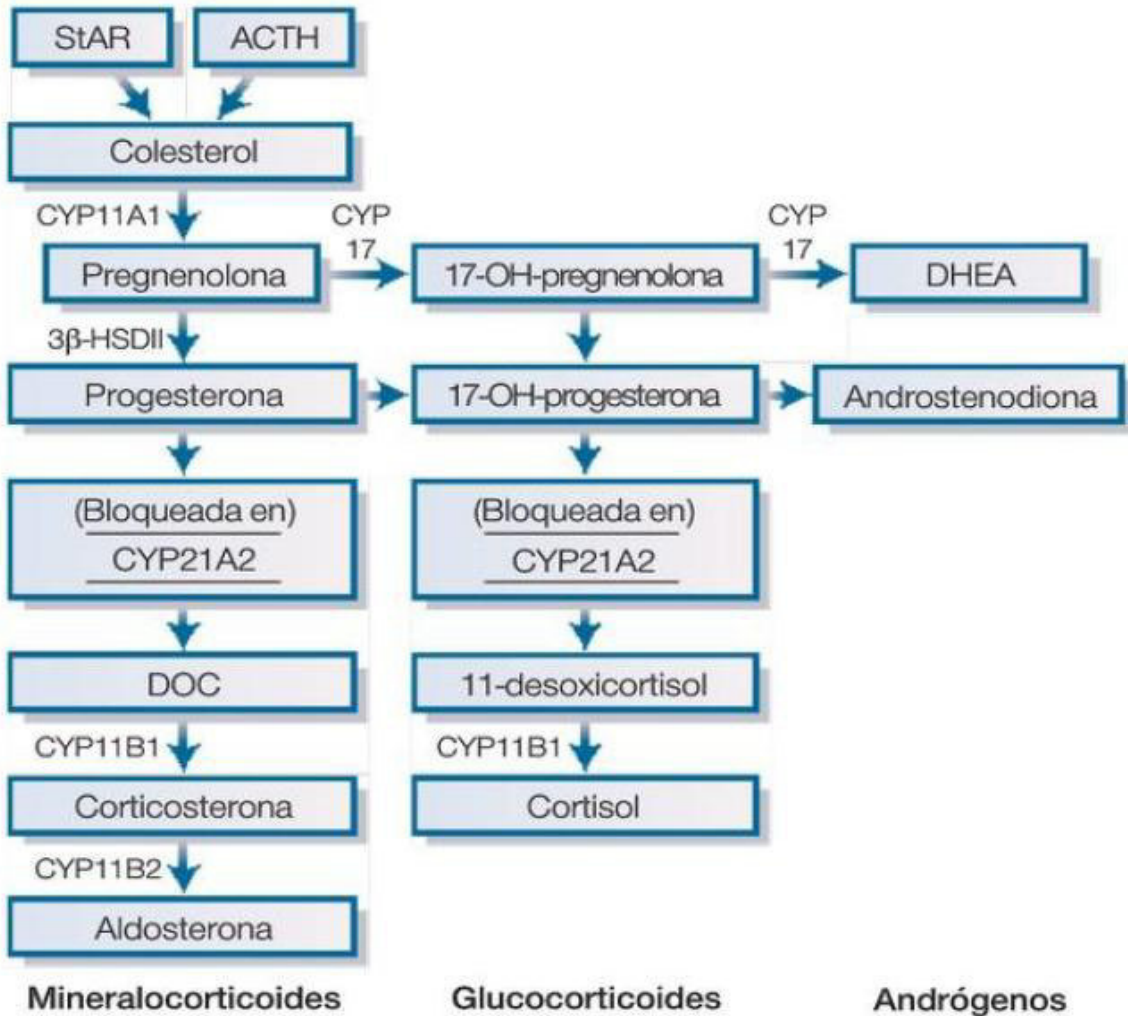


FIGURA N°6. Nota. Adaptado de Willians tratado de endocrinología (p. 495), por Kronenberg et al., 2009 Editorial Elsevier.

PRODYTEC

Este se define así mismo es su página oficial del ministerio de salud como:

PRODYTEC es un programa destinado a dar cumplimiento a la ley 13905/08, que declara obligatoria en la provincia de Buenos Aires la detección de enfermedades congénitas del recién nacido mediante un procedimiento de pesquisa masiva con el fin de lograr un diagnóstico precoz y tratamiento oportuno. La presente ley contempla la investigación de las siguientes enfermedades: hipotiroidismo congénito, fenilcetonuria, galactosemia, hiperplasia suprarrenal congénita, déficit de biotinidasa, fibrosis quística y leucinosi o enfermedad de jarabe de arce. (www.ms.gba.gov.ar/sitios/prodytec)¹⁸

En base a ello plantea la necesidad de tener estos programas de salud pública que beneficien a los afectados y poder coordinar el adecuado diagnóstico y tratamiento, así lo manifiesta nuevamente en su página oficial:

Los programas de pesquisa neonatal son una herramienta del sistema interdisciplinario de Salud Pública, que permite seleccionar entre todos los recién nacidos (RN) vivos, a aquellos presumiblemente afectados por la enfermedad investigada. Está destinado a patologías difíciles de reconocer clínicamente, cuya evolución espontánea tiene una morbimortalidad elevada, y al tratamiento que mejora su evolución si su implementación es precoz. Los casos positivos en la pesquisa deben ser sometidos luego a estudios de confirmación, que permitan establecer el diagnóstico y su correspondiente tratamiento (www.ms.gba.gov.ar/sitios/prodytec/1-1-antecedentes-generales)¹⁹

El Laboratorio de Endocrinología del Hospital de Niños “Sor María Ludovica” es Centro de Referencia para la confirmación y seguimiento de HSC, en el marco de dicho programa.

PESQUISA

Para la pesquisa se utilizan gotas de sangre recolectadas en tarjetas de papel de filtro Schleicher y Schuell N° 903, diseñadas específicamente para tal fin, impregnando cinco con sangre obtenida, preferentemente, por punción del talón.(<https://www.fba.org.ar/programas-de-la-fba/programa-de-deteccion-de-errores-congenitos-del-metabolismo-ecm/componentes/>)²⁰ En el diseño de esta tarjeta se incluyó un espacio destinado al registro de los datos de identificación del paciente, de su madre, del centro asistencial de origen donde se produjo el nacimiento e información de interés médico.

Se analizara por un método automatizado en este caso utilizo Fluorometría a Tiempo de Resolución (DELFA). Este es un ensayo del tipo heterogéneo competitivo o sándwich que se basa en la utilización de un lantánido como sustancia marcadora. En el cual se utilizara un lavado especial para se libere el lantánido unido al anticuerpo. Al cuál se lo excitará y producirá una onda, la cual se medirá en un rango específico para dicha emisión.

La comunicación de casos positivos, se organizó por un doble sistema. Por un lado, el laboratorio de pesquisa se encarga de la comunicación de cada resultado anormal al responsable del programa en la institución donde ocurrió el nacimiento por vía telefónica y al Servicio Social del Hospital Interzonal de Pediatría “Sor María Ludovica” de La Plata, por fax. Por otra parte, una red constituida por trabajadores sociales pertenecientes a los diferentes hospitales intervinientes, dirigida por un coordinador con sede en el centro especializado, debía ocuparse de localizar a la familia del RN en su domicilio y de facilitarle su traslado.

RADIOINMUNOENSAYO (RIA) DE 17OH-PROGESTERONA

La técnica de radioinmunoensayo que utilizamos para la medición de 17OHP es un ensayo del tipo competitivo, en el cual se utiliza un trazador que contiene la molécula de 17 OHP marcada radioactivamente con I^{125} . Este trazador competirá con la 17OHP de la muestra, en unos tubos que están recubiertos con anticuerpos anti 17OHP. Para luego medir la radiación en un contador gamma. Para obtener la concentración de las muestras se utilizará una curva de calibración dada por unos calibradores cuyas concentraciones deben ir de 0 a 40 ng/ml del analito. Siendo el calibrador 0 el conteo mayor de radiación. Además este se utilizará para diluir la muestra, si esta excede la concentración máxima del calibrador de mayor concentración. Para armar la curva de calibración se grafica en el eje X el log de la concentración de los calibradores y en el eje Y logaritmo de B/B0 (%). Luego se interpola B muestra/B0 (%) y se obtiene la concentración de la muestra desconocida. Siendo B0 las cuentas por minuto del calibrador cero y B las cuentas por minuto de la muestra. (Trabajo práctico: determinación de 17-hidroxiprogesterona por radioinmunoensayo. Cátedra endocrinología infantil UNAJ) ²¹ Para saber cómo obtener la muestra y procesarla ver el ANEXO I.

OBJETIVO:

Establecer el porcentaje de casos confirmados como HSC con pesquisa positiva.

Establecer porcentajes de casos confirmados en ambos sexos y analizar si existe alguna prevalencia según sexo.

Comparar datos obtenidos con datos bibliográficos

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se estudiaron retrospectivamente 103 pacientes detectados por pesquisa como positivos para HSC en el PRODYTEC, que concurrieron al Hospital de Niños “Sor María Ludovica” para realizar la posterior confirmación, en el periodo enero 2017 a noviembre 2018. Del total de los detectados, 14 pacientes no se acercaron al Hospital, por concurrir a otros centros, fallecieron o por razones desconocidas (criterios de exclusión).

La pesquisa se realiza midiendo los niveles de 17OHP mediante Auto DELFIA neonatal alfa-17OH-Progesterona de PerkinElmer. (Marino, S, 2020)²²

Para la confirmación de los casos se midió en el laboratorio clínico especializado, la misma hormona mediante la técnica RIA.

Con los datos recabados se realizó un análisis de los casos. Calculando porcentajes de casos confirmados, en general, varones y mujeres. Para ello se utilizará la siguiente formula:

$$\text{PORCENTAJES DE CASOS CONFIRMADOS(VPP)} = \frac{\text{CASOS CONFIRMADOS}}{\text{CASOS CONFIRMADOS} + \text{CASOS NEGATIVOS}} \times 100$$

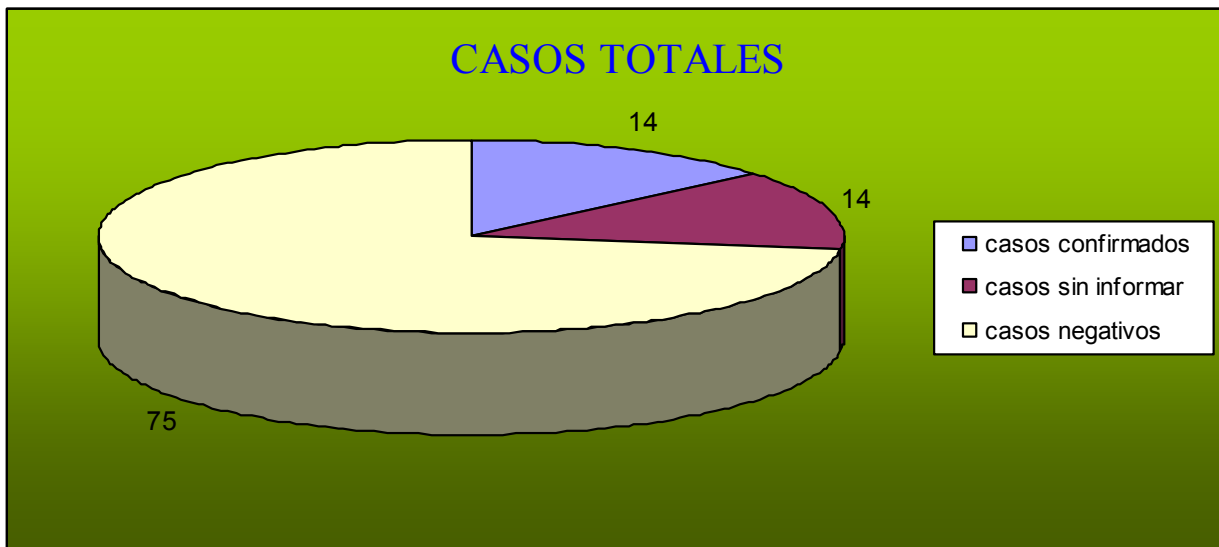
RESULTADOS:

En la tabla 1 se resumen los datos recabados de los pacientes analizados, con su respectivo gráfico (la base de datos se detalla en ANEXO II):

TABLA 1

NUMERO DE CASOS	
CONFIRMADOS	14
SIN INFORMAR	14
NEGATIVOS	75
TOTALES	103

GRAFICO 1



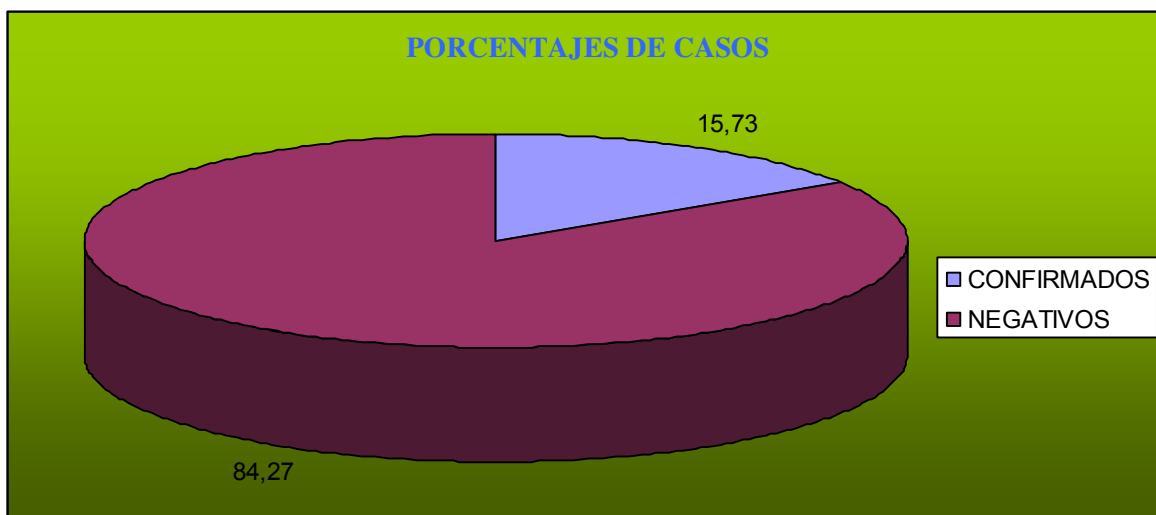
De los 103 resultados positivos derivados por la pesquisa, 14 se excluyen del análisis respetando los criterios de exclusión establecidos, de modo que el total de casos analizados son 89. En tabla 2 y

gráfico 2 se informa los porcentajes obtenidos de casos confirmados a partir de la base de datos final.

TABLA 2

CASOS	PORCENTAJE (%)
CONFIRMADOS	15,73
NEGATIVOS	84,27

GRAFICO 2

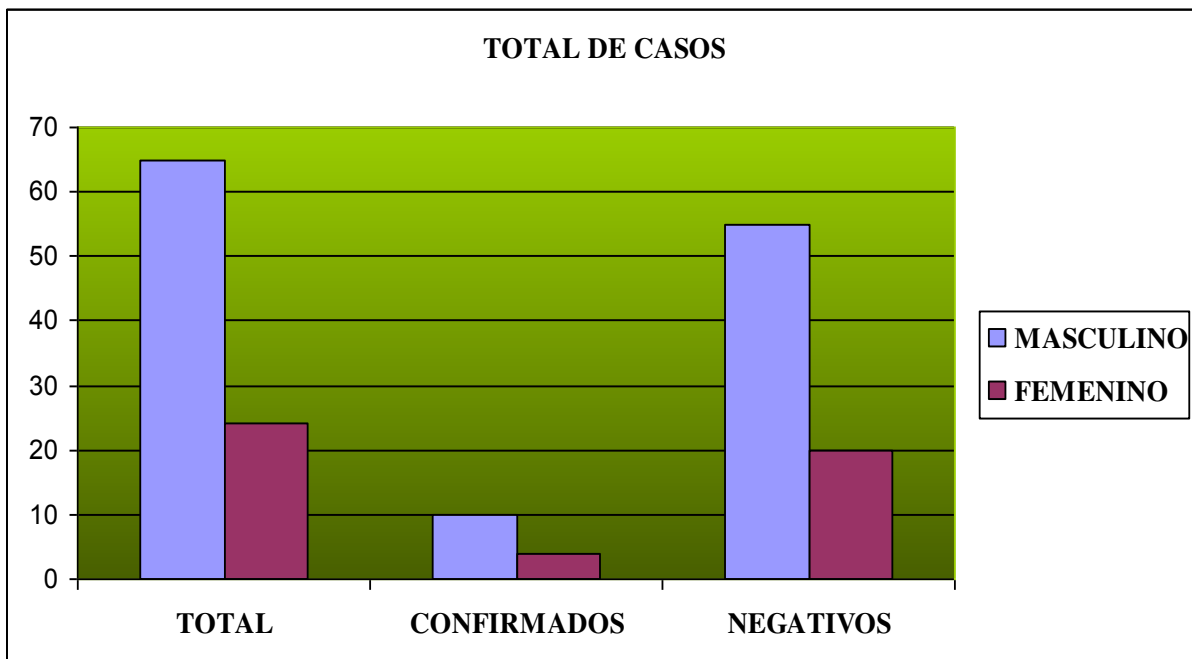


De la nueva base de datos se obtiene, la cantidad de casos femeninos y masculinos y la cantidad de casos confirmados para cada sexo, que se resumen en la tabla 3 y gráfico 3.

TABLA 3

	TOTAL	CONFIRMADO	NEGATIVOS
MASCULINO	65	10	55
FEMENINOS	24	4	20

GRAFICO 3

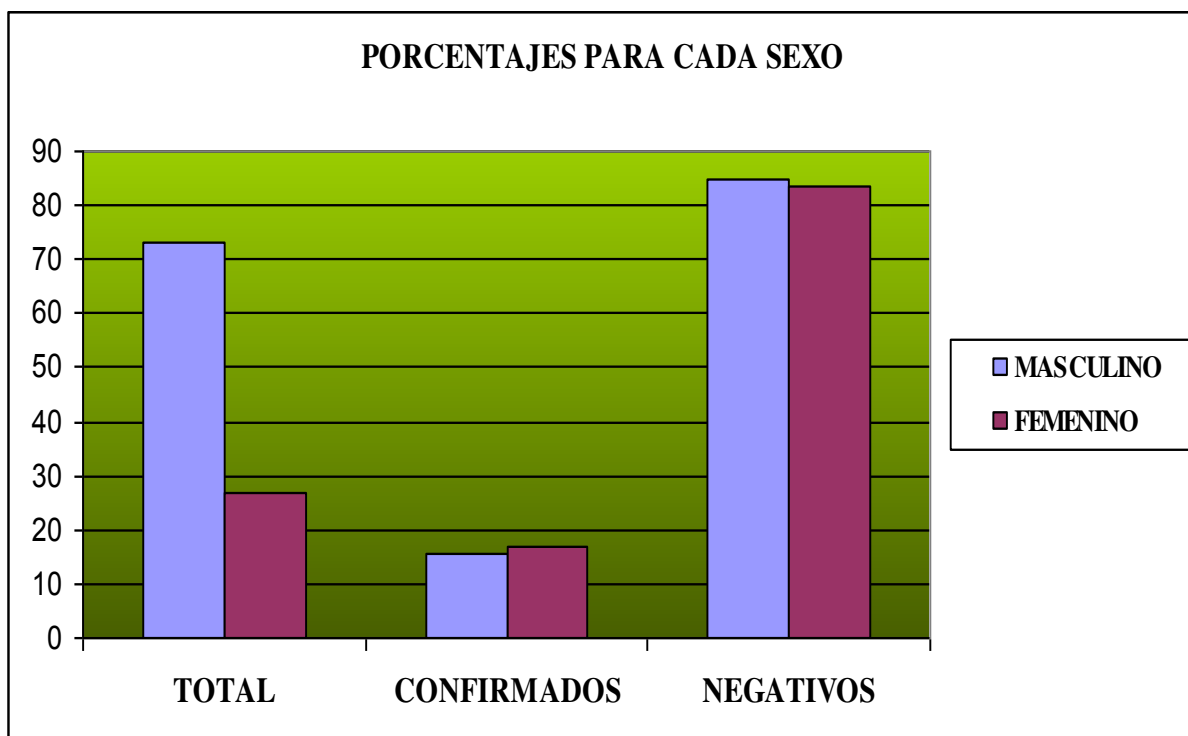


Con la información obtenida se estableció el porcentaje de varones y mujeres afectados por el screening. Además se realizó el porcentaje de casos confirmados para cada sexo, que se resume en la tabla 4 y gráfico 4.

TABLA 4

	TOTAL (%)	CONFIRMADOS (%)	NEGATIVOS (%)
MASCULINOS	73,03	15,38	84,62
FEMENINOS	26,97	16,67	83,33

GRAFICO 4



DISCUSION:

A partir de los resultados obtenidos en este trabajo se puede decir que, del total de recién nacidos que se sometieron a la pesquisa neonatal y debían realizar la confirmación por presentar valores de 17OHProgesterona por encima del valor de corte durante el transcurso de los meses que abarco este estudio, un bajo porcentaje realizaron la confirmación en otro centro de salud, demostrando que aún no se ha podido centralizar el 100%, al menos, en la etapa de confirmación del programa.

El hecho de calcular el porcentaje de casos confirmados a partir de casos positivos detectados en pesquisa, hace referencia al cálculo de valor predictivo positivo (VPP) de la técnica de screening. Esta consideración nos permite comparar el resultado obtenido con otros trabajos, y tener en cuenta si el objetivo del trabajo se cumple. Debido a dificultad de encontrar bibliografía del país, con información suficiente para comparar datos se recurrió a bibliografía de otros países en los cuales, también se llevó a cabo dicha investigación.

Al obtener valores bajos de VPP esto indica como se espera de una enfermedad relativamente poco frecuente y también esperada según bibliografía de otros países (Atsumi, 2015)²³ no obstante hay que tener en cuenta ciertas condiciones fisiológicas que aumentan los falsos positivos en el testeo como lo dice Amparo Rodríguez et al. (2017)²⁴, disminuyendo así el VPP.

Una discusión adicional que se puede sumar a este trabajo es el hecho de dejar planteado a futuro, modificar aún más los puntos de corte para la pesquisa, que regían al momento de desarrollar el trabajo, disminuyendo los falsos positivos reajustando según el peso al nacer y la edad gestacional (<http://dx.doi.org/10.25100/cm.v48i4.2893>)²⁵. Sobre dicho tema no se ahondará debido a que excede las temáticas propuestas, pero se deja planteada la posibilidad a futuro.

CONCLUSION:

El porcentaje de casos confirmados (15.73%) o valor predictivo positivo obtenido coincide con lo expresado en la bibliografía, reflejando así, que es una enfermedad poco prevalente en la provincia de Buenos Aires. También se comprobó que no tiene una incidencia mayor en un sexo, sino que afecta a ambos sexo por igual. A pesar de las mejoras en la metodología, los esfuerzos aún deben concentrarse en disminuir la tasa de falsos positivos.

Referencias

1. Kumar Vinay, Abbas Abul, Fausto Nelson, Aster Jon. (2010). Robbins y Cotran. Patología estructural y funcional. Editorial Elsevier. Octava edición. Capítulo 24. Página 1152
2. Gardner David, Shoback Dolores. (2012). Greenspan. Endocrinología básica y clínica. Editorial Mc Graw Hill. Novena edición. Capítulo 10. Página 340
3. Kronenberg Henry, Melmed Shlomo, Polonsky Kennet, Larsen Reed. (2009) Willians tratado de endocrinología. Editorial Elsevier. Décimo primera edición. Sección 4 capítulo 14. Paul M. Stewart. Página 494.
4. <http://www.ms.gba.gov.ar/sitios/prodytec/>
5. Gardner David, Shoback Dolores. (2012). Greenspan. Endocrinología básica y clínica. Editorial Mc Graw Hill. Novena edición. Capítulo 9. Página 286
6. Imagen tomada de <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/glandula-suprarrenal>
7. Gardner David, Shoback Dolores. (2012). Greenspan. Endocrinología básica y clínica. Editorial Mc Graw Hill. Novena edición. Capítulo 9. Página 285
8. Silverthorn Dee. (2007) .Fisiología Humana un enfoque integrado. Editorial Panamericana. Cuarta edición. Capítulo 23 páginas 751-754
9. Kronenberg Henry, Melmed Shlomo, Polonsky Kennet, Larsen Reed. (2009) Willians tratado de endocrinología. Editorial Elsevier. Décimo primera edición. Sección IV. Capítulo 14. Figura 14.1
10. Figura tomada de Kronenberg Henry, Melmed Shlomo, Polonsky Kennet, Larsen Reed. (2009) Willians tratado de endocrinología. Editorial Elsevier. Décimo primera edición. Sección IV. Capítulo 14. Figura 14.12 (p. 465)
11. Figura tomada de Kronenberg Henry, Melmed Shlomo, Polonsky Kennet, Larsen Reed. (2009) Willians tratado de endocrinología. Editorial Elsevier. Décimo primera edición. Sección IV. Capítulo 14. Figura 14.6 (p. 458)
12. Gardner David, Shoback Dolores. (2012). Greenspan. Endocrinología básica y clínica. Editorial Mc Graw Hill. Novena edición. Capítulo 9. Ty B. Carroll, MD; David C. Aron, MD, MS; James W. Findling, MD y J. Blake Tyrrell, MD) página 288

13. Kronenberg Henry, Melmed Shlomo, Polonsky Kennet, Larsen Reed. (2009) Willians tratado de endocrinología. Editorial Elsevier. Décimo primera edición.. Sección IV. Capítulo 14. Página 455-456
14. Figura tomada de Kronenberg Henry, Melmed Shlomo, Polonsky Kennet, Larsen Reed. (2009) Willians tratado de endocrinología. Editorial Elsevier. Décimo primera edición. Sección IV. Capítulo 14. Figura 14.3 (p. 457).
15. Kumar Vinay, Abbas Abul, Fausto Nelson, Aster Jon.(2010). Robbins y Cotran. Patología estructural y funcional. Editorial Elsevier. Octava edición. Capítulo 24. Página 1152-1153
16. Kronenberg Henry, Melmed Shlomo, Polonsky Kennet, Larsen Reed. (2009) Willians tratado de endocrinología. Editorial Elsevier. Décimo primera edición. Sección IV. Capítulo 14.página 495.
17. Figura tomada de Kronenberg Henry, Melmed Shlomo, Polonsky Kennet, Larsen Reed. (2009) Willians tratado de endocrinología. Editorial Elsevier. Décimo primera edición.. Sección IV. Capítulo 14. Figura 14.31 (p. 495)
18. <http://www.ms.gba.gov.ar/sitios/prodytec/>
19. <http://www.ms.gba.gov.ar/sitios/prodytec/1-1-antecedentes-generales/>.
20. <https://www.fba.org.ar/programas-de-la-fba/programa-de-deteccion-de-errores-congenitos-del-metabolismo-ecm/componentes/>
21. Trabajo práctico: Determinación de 17-hidroxiprogesterona por radioinmunoensayo. Cátedra de Regulación Endócrina del Metabolismo, Crecimiento y Reproducción de la U.N.A.J.
22. Marino, S., Perez Garrido, N., Ramírez, P., Pujana, M., Dratler, G., Belgorosky, A., & Marino, R. (2020). Molecular analysis of the CYP21A2 gene in dried blood spot samples. Análisis molecular del gen CYP21A2 en muestras de sangre seca en papel de filtro. Medicina, 80(3), 197–202.
23. Atsumi Tsuji, Kaoru Konishi, Satomi Hasegawa, Akira Anazawa, Toshikazu Onishi, Makoto Ono, Tomohiro Morio, Teruo Kitagawa and Kenichi Kashimada(2015) Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in Tokyo, Japan from 1989 to 2013: a retrospective population-based Study. Tsuji et al. BMC Pediatrics (2015) 15:209
24. Amparo Rodríguez, Begoña Ezquieta, José Igancio Labarta, María Clemente, Rafael Espino, Amaia Rodríguez y Aranzazu Escribano, en representación del grupo de Hiperplasia

Suprarrenal Congénita de la Sociedad Española de Endocrinología Pediátrica (2017)
Recomendaciones para el diagnóstico y tratamiento de pacientes con formas clásicas de
hiperplasia suprarrenal congénita por déficit de 21-hidroxilasa. *An Pediatr (Barc)*. 2017;
87(2):116.e1---116.e10

25. <http://dx.doi.org/10.25100/cm.v48i4.2893>

ANEXO I

El radioinmunoensayo de 17 hidroxiprogesterona (17OHP) es un ensayo competitivo. El mismo equipo puede ser utilizado para la medición de 17OHP en suero o plasma con EDTA o indirectamente, después de la extracción de la muestra con éter y evaporación del solvente, seguido de la resuspensión con el calibrador cero. Las muestras de suero o plasma, los extractos, el control y los calibradores se incuban con el trazador I^{125} 17 OHP en tubos recubiertos con anticuerpo anti-17OHP. Después de la incubación se aspira o decanta el contenido de los tubos y éstos se lavan para retirar el 17OHP marcado con I^{125} pero no enlazado. Se determina la actividad enlazada mediante un contador gamma. Los valores desconocidos se determinan mediante la interpolación con una curva estándar.

RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS:

Recoger la sangre en tubos secos o con EDTA. Separar el suero o plasma de las células por centrifugación. Las muestras séricas o plasmáticas pueden ser conservadas a 2-8 °C si el ensayo se realiza dentro de las 24 horas, de lo contrario congelar a -18 °C hasta 1 año. El descongelamiento de las muestras debe ser realizado a temperatura ambiente. Si las muestras tienen concentraciones más altas que el mayor de los calibradores, deben ser diluidas con el calibrador cero.

PROCEDIMIENTO:

Preparación de los reactivos: deben alcanzar temperatura ambiente antes de su uso.

Reconstitución de los controles de calidad: se suministran liofilizados, el contenido de los mismos de reconstituye con el volumen de agua destilada indicado en la etiqueta. Una vez reconstituídos esperar 10 minutos y mezclar suavemente para evitar la formación de espuma antes de dispensar.

Preparación de la solución de lavado: verter el contenido del frasco en 950 ml de agua destilada y homogeneizar. Conservar en heladera.

Extracción de las muestras (menores de 6 meses de edad): colocar 100 ul de muestra con 2.5 ml de éter etílico, tapar y mezclar vigorosamente con vortex durante tres ciclos de 1 minuto. Luego congelar a menos de -18 C hasta que la fase acuosa se congele. Remover cuidadosamente la fase orgánica sin contaminar con la fase acuosa y trasvasar a otro tubo.

Evaporar la fase orgánica completamente en baño de agua a 37 C bajo campana.

Los tubos con el extracto seco pueden almacenarse tapados hasta 7 días en heladera. Al momento de realizar el ensayo resuspender los mismos con 100 ul de estándar cero. Agitar enérgicamente en vortex por 2 minutos.

Procedimiento del inmunoanálisis:

Paso 1: adicionar a los tubos recubiertos de anticuerpo anti- 17OHP 25 ul de calibrador, control , muestra o extracto reconstituído y 400 ul de trazador. Mezclar.

Paso 2: incubar 30 minutos a 37 C (35-39 C).

Paso 3: aspirar o decantar el contenido de los tubos. Lavar 2 veces con 2 ml de solución de lavado. Aspirar o decantar.

Paso 4: contar en contador gamma durante 1 minuto.

RESULTADOS:

Los resultados del inmunoanálisis se obtienen por interpolación con la curva estándar. La curva sirve para la determinación de las concentraciones de 17 OHP en las muestras medidas al mismo tiempo que los calibradores. Calcular la relación B/B0 (%) de los calibradores y graficar en papel logit-log B0 son las cuentas por minuto leídas en contador gamma del calibrador cero y B las cuentas por minuto de cada uno de los calibradores.

Se grafica en el eje X el log de la concentración de los calibradores y en el eje Y logit de B/B0 (%). Luego se interpola B muestra/B0 (%) y se obtiene la concentración de la muestra desconocida.

ANEXO 2

Base de datos recopilada en el hospital Ludovica, solo se presenta apellido y sexo de los pacientes para no exponer identidades.

APELLIDO	SEXO	FECHA INFORME	FECHA DE NACIMIENTO	VALOR DE LABORATORIO	VALOR DE REFERENCIA
ALVARERO	M	09/01/2017	13/12/2017	1,81	0,05/5,75
RODRIGUEZ	F	27/01/2017	02/01/2017	2,67	0,05/5,75
FERNANDEZ	M		17/01/2017	sin toma de muestra	0,05/5,75
DIAZ	M		06/01/2017	1,14	0,05/5,75
SUAREZ	M	02/02/2017	21/01/2017	sin toma de muestra	0,05/5,75
FERNANDEZ	F		28/01/2017	3,23	0,05/5,75
ORTEGA	F		31/01/2017	5,81	0,05/5,75
NAVARRO	M	14/02/2017	10/02/2017	1,45	0,05/5,75
AZZOLINI	M	04/03/2017	26/02/2017	0,65	0,05/5,75
OLMEDO	F	09/03/2017		1,24	0,05/5,75
LOZADA	M	16/03/2017	03/03/2017	0,39	0,05/5,75
MENDEZ	M	17/03/2017	10/03/2017	4,2	0,05/5,75
BRIZULA	M	23/03/2017	13/03/2017	22,6	0,05/5,75
BUSTOS	M	28/03/2017	17/03/2017	1,43	0,05/5,75
RUIZ	F	29/03/2017	17/03/2017	0,75	0,05/5,75
GOMIS	M	30/03/2017	23/03/2017	1,13	0,05/5,75
PEREZ	F	01/04/2017	12/02/2017	0,85	0,05/5,75
				0,54	0,05/5,75
FESER	F	22/03/2017	11/04/2017	0,53	0,05/5,75
DUPLESY	F	24/04/2017	15/04/2017	1,02	0,05/5,75
PALACIO	F	24/04/2017	01/04/2017	sin toma de muestra	0,05/5,75
DEL VALLE	M		08/04/2017	2,96	0,05/5,75
ALEGRE	M		16/04/2017	3,52	0,05/5,75
MACIEL	M	02/05/2017	22/04/2017	5,37	0,05/5,75
FARIAS	M	02/05/2017	21/04/2017	1,61	0,05/5,75
ROJAS	M	08/05/2017	23-abr	0,93	0,05/5,75
RIVERO	M	08/05/2017	14/04/2017	0,26	0,05/5,75
FERNANDEZ	F	08/05/2017	10/04/2017	3,23	0,05/5,75
DIAZ	M	11/05/2017	27/04/2017	sin toma de muestra	0,05/5,75
ZAMUDIO	M	13/05/2017	04/05/2017	1,74	0,05/5,75
INIGO	F	18/05/2017	27/04/2017	4,51	0,05/5,75
				1,24	0,05/5,75
RAVE	M	18/05/2017	07/05/2017	0,31	0,05/5,75

AGUILERA	M		20/05/2017	0,84	0,05/5,75
TROCHE	M		02/06/2017	sin toma de muestra	0,05/5,75
ALFONSO	M	12/06/2017	31/05/2017	0,72	0,05/5,75
NUNEZ	M	12/06/2017	30/05/2017	menor a 0,32	0,05/5,75
GUBER	M	12/06/2017	01/06/2017	0,45	0,05/5,75
BARCO	M		03/06/2017	1,44	0,05/5,75
CORRIA	F		30/05/2017	1,78	0,05/5,75
TRINIDAD	M	16/06/2017	10/06/2017	0,4	0,05/5,75
GOMEZ	M	23/06/2017	28/05/2017	25,5	0,05/5,75
BONET	F	12/06/2017	12/06/2017	sin toma de muestra	0,05/5,75
ROBALDI	F	29/06/2017	16/07/2017	0,53	0,05/5,75
ZAPATA	M	10/07/2017	01/07/2017	0,76	0,05/5,75
DIAZ	M	21/07/2017	13/07/2017	42,8	0,05/5,75
FLEITAS	M	24/07/2017	06/07/2017	17,4	0,05/5,75
QUINONES	M	28/07/2017	13/07/2017	0,44	0,05/5,75
MAIDANA	M	31/07/2017	19/07/2017	1,62	0,05/5,75
BARRA RIGONI	M	07/08/2017	22/05/2017	sin toma de muestra	0,05/5,75
CAMO BALS	M		24/07/2017	sin toma de muestra	0,05/5,75
TONELLI SANCHEZ	M	10/08/2017	01/08/2017	1,12	0,05/5,75
PIRIZ	M		22/08/2017	0,69	0,05/5,75
BOCES DIAS	M	11/09/2017	01/09/2017	0,37	0,05/5,75
TORTAROLO	F	15/09/2017	05/09/2017	0,65	0,05/5,75
SIMODEL	F			1,96	0,05/5,75
CORIA	M		06/09/2017	0,65	0,05/5,75
BARRERA OLIVERA	M		21/09/2017	6,35	0,05/5,75
QUIROZ JEAN	M	12/10/2017	05/10/2017	0,5	0,05/5,75
CRISTOBAL					
RADOVANOVICH	M	26/10/2017	22/10/2017	2,11	0,05/5,75
MARECO	M	26/10/2017	20/10/2017	6,98	0,05/5,75
LEDEZMA	F	04/11/2017	22/10/2017	sin toma de muestra	0,05/5,75
ALMEDIA	M	04/01/2017	24/10/2017	18,6	0,05/5,75
SOTO	M	04/11/2017	19/10/2017	2,26	0,05/5,75
JORDALES	M		25/10/2017	1,05	0,05/5,75
FLORES	F	11/11/2017	04/11/2017	sin toma de muestra	0,05/5,75
GALARZA	F	15/11/2017	06/11/2017	0,42	0,05/5,75
CORBALAN	M	05/12/2017	25/10/2017	menor a 0,35	0,05/5,75
CARBALLO	M			0,51	0,05/5,75
CARRILLO	M		06/11/2017	1,5	0,05/5,75
AGUERO	M	23/11/2017	01/11/2017	0,49	0,05/5,75
AVALOS	M	23/11/2017	07/11/2017	0,3	0,05/5,75
DEL VALLE	M	01/12/2017	24/11/2017	menor a 0,36	0,05/5,75
GIL	M	26/12/2017	16/12/2017	0,35	0,05/5,75
MOREL	F	17/01/2017	08/01/2018	6,49	0,05/5,75

PETRONA MONZONA	M	19/01/2018	08/01/2018	0,43	0,05/5,75
YACOBELLO	M	22/01/2018	11/01/2018	0,94	0,05/5,75
TORRES	M	25/01/2018	15/01/2018	0,12	0,05/5,75
BRAVO	M		11/01/2018	0,89	0,05/5,75
ALBANECE	F		10/01/2018	0,12	0,05/5,75
VEGA	F		19/01/2018	sin toma de muestra	0,05/5,75
BASUALDO	M	09/02/2018	30/01/2018	0,62/1,10	0,05/5,75
GONZALEZ	M	05/03/2018	02/02/2018	9,5	0,05/5,75
ALMADA					
AHUDA,AWUADA	M	14/03/2018	28/02/2018	0,54	0,05/5,75
BARRIONUEVO	F		07/03/2018	5,3	0,05/5,75
CACERES	M		06/03/2018	6,8	0,05/5,75
OLIVERA	F	10/04/2018	24/03/2018	menor a 0,36	0,05/5,75
MORALES	F		05/03/2018	3,4	0,05/5,75
PEREYRA	M	19/04/2018	04/04/2018	1,5	0,05/5,75
CARELLO	M	19/04/2018	24/03/2018	0,76	0,05/5,75
NUNEZ	F	19/04/2018	08/04/2018	1,15	0,05/5,75
PELOSO	M		21/04/2018	1,5	0,05/5,75
SUAREZ	M		10/04/2018	sin toma de muestra	0,05/5,75
LOPEZ	F	14/05/2018	08/04/2018	0,35	0,05/5,75
PINEL	M		11/05/2018	0,85	0,05/5,75
BUSTOS	M		25/05/2018	2,2	0,05/5,75
HERNANDEZ	F		19/05/2018	sin toma de muestra	0,05/5,75
GIMENEZ	M	07/06/2018	27/05/2018	0,44	0,05/5,75
ORTEGA	M		09/06/2018	2,6	0,05/5,75
LARDANTE CID	F	18/6/2018	13/06/2018	24	0,05/5,75
ALEGRE	M	19/06/2018	15/05/2018	sin toma de muestra	0,05/5,75
GOMEZ	M	06/07/2018	01/07/2018	18	0,05/5,75
MONTILLO	M	27/07/2018	20/07/2018	4	0,05/5,75
PADILLA	F	31/08/2018	28/07/2018	37	0,05/5,75
FERNANDEZ	M	01/09/2018	25/08/2018	0,43	0,05/5,75