







Estudio de familiares de primer grado de pacientes cubanos con hiperplasia adrenal congénita

Study of first -degree relatives of Cuban patients with congenital adrenal hyperplasia

Tania Mayvel Espinosa Reyes^{1,2*} , Paulina Aracely Lantigua Cruz^{2,3} , Teresa Collazo Mesa^{2,3} ,
Emma Domínguez Alonso^{1,2} 

¹Instituto Nacional de Endocrinología. La Habana, Cuba

²Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. La Habana, Cuba.

³Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: mayvel2107@gmail.com

Cómo citar este artículo

Espinosa Reyes TM, Lantigua Cruz PA, Collazo Mesa PA, Domínguez Alonso E: Estudio de familiares de primer grado de pacientes cubanos con hiperplasia adrenal congénita. Rev haban cienc méd [Internet]. 2024 [citado]; Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/5713>

Recibido: 06 de mayo de 2024

Aprobado: 30 de julio de 2024

RESUMEN

ABSTRACT

Introducción: El estudio de la familia de pacientes con hiperplasia suprarrenal congénita (HSC), enriquece la caracterización clínica y genética de la entidad en Cuba y ofrece herramientas para el asesoramiento genético y el diagnóstico prenatal.

Objetivo: Identificar elementos clínicos relacionados con la entidad, en familiares de primer grado de pacientes y detectar entre ellos, a enfermos y portadores.

Material y Método: Se realizó un estudio descriptivo transversal y observacional en familiares de primera línea de 31 pacientes en los que se habían identificado mutaciones puntuales, en investigación previa. Se les realizó pesquisa molecular basado en la reacción en cadena de la polimerasa para la detección de cinco mutaciones puntuales (Intrón 2 (g.655C/A>G), delección 8pb, Q318X (g.1994C>T), I172N y P30L) y finalmente, se les determinó 17 hidroxiprogesterona.

Resultados: La infertilidad, abortos espontáneos e hirsutismo fueron encontrados, aunque en bajos porcentajes. Se estableció el diagnóstico de portadores de alelos con mutaciones severas en familiares de las formas clásicas. Las mutaciones más frecuentes observadas fueron Intrón 2 (g.655C/A>G) y Q318X (g.1994C>T).

Conclusiones: Los resultados obtenidos permiten realizar un asesoramiento genético personalizado, diferenciado e integral, teniendo en cuenta las necesidades y peculiaridades de cada familia.

Introduction: The study of first-line relatives of patients with congenital adrenal hyperplasia (CAH) enriches the clinical and genetic characterization of the entity in Cuba and offers tools for genetic counseling and prenatal diagnosis.

Objective: To identify clinical elements related to the entity in their first-degree relatives. Perform the molecular characterization of known mutations and, finally, the detection of patients and carriers.

Material and Methods: A descriptive, cross-sectional and observational study was conducted; based on point mutations found in previous research' in 31 patients. First-degree relatives of these patients were questioned in order to identify clinical manifestations and reproductive history related to CAH. Molecular research was carried out through a protocol based on polymerase chain reaction for the detection of five point mutations (Intron 2 (g.655C/A>G), Deletion 8pb, Q318X (g.1994C>T), I172N and P30L). Finally, 17 hydroxyprogesterone was determined in order to detect cases or possible carriers, which was done after molecular screening.

Results: The most frequent elements found were infertility, spontaneous abortions and hirsutism, although in low percentages. The diagnosis of allele carriers with severe mutations in relatives of the classical forms was established. The most frequent mutations observed were Intron 2 and Q318X.

Conclusions: The results obtained allow for personalized, differentiated and comprehensive genetic counselling, taking into account the needs and peculiarities of each family.

Palabras Claves:

Hiperplasia suprarrenal congénita, diagnóstico prenatal, asesoramiento genético, familia.

Keywords:

Congenital adrenal hyperplasia, prenatal diagnosis, genetic counseling, family.



INTRODUCCIÓN

La hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) es un trastorno hereditario de la esteroidogénesis adrenal, que involucra a las enzimas que intervienen en la biosíntesis del cortisol.^(1,2)

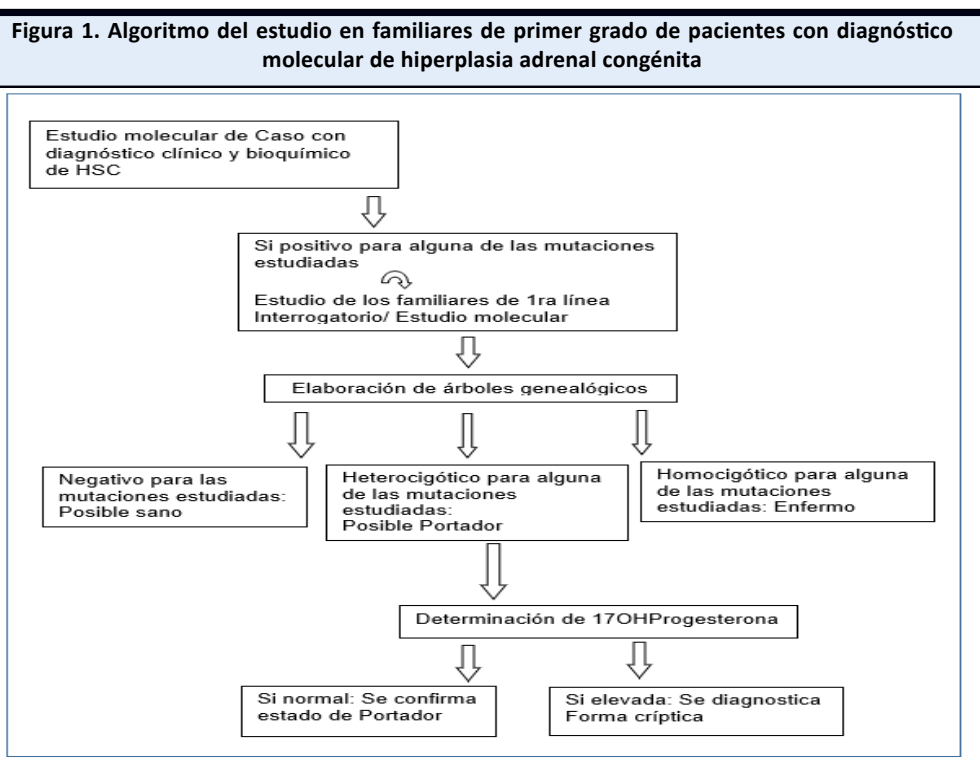
Su diagnóstico constituye un proceso de vital importancia, clásico ejemplo de la necesidad de la inter y la transdisciplinariedad. Se requiere el concurso de varios especialistas quienes, de acuerdo con la situación y el ciclo vital de los pacientes, involucra a neonatólogos, pediatras, endocrinos, genetistas clínicos, urólogos, cirujanos y psicólogos. Profesionales, que en un trabajo de equipo, funcionan con el propósito fundamental de garantizar la atención médica desde la pesquisa neonatal y de lo que dependerá, en gran medida, la evolución y el pronóstico.⁽³⁾

Dada la heterogeneidad clínica de la HSC, a los elementos del fenotipo resultante se incluyen para diagnóstico, determinaciones de metabolitos en sangre, estudios hidroelectrolíticos, ultrasonográficos, determinación del sexo genético, estudios hormonales y finalmente el diagnóstico molecular.⁽⁴⁾

En investigación previa los autores estudiaron a 55 pacientes con diagnóstico clínico y bioquímico de HSC, en 31 de ellos fueron identificadas algunas de las mutaciones puntuales exploradas (Intrón 2, Q318X, delección 8pb, I172N y P30L). Con estos elementos se trazaron como nuevos **objetivos**, identificar elementos clínicos relacionados con la entidad en sus familiares de primer grado. Realizar la caracterización molecular de los progenitores y hermanos clínicamente no afectos y, por último, la detección de enfermos y portadores.^(5,6)

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo transversal y observacional (Figura 1). A partir de las mutaciones puntuales encontradas en investigación previa, en 31 pacientes; se interrogó de manera detallada a los familiares de primer grado de estos pacientes con el propósito de identificar manifestaciones clínicas y de historia reproductiva relacionadas con la HSC (infertilidad, abortos espontáneos, muerte neonatal de etiología no precisada, recién nacido con sexo cuestionable al nacer, acné, hirsutismo, síndrome de ovarios poliquísticos y diagnóstico conocido de HSC).



Se realizó la caracterización molecular de estos familiares de primer grado a través de un protocolo avalado por el Centro Nacional de Genética Médica, que utiliza en la primera etapa la reacción en cadena de la polimerasa en dos fases y en la segunda etapa se procedió a la detección de las cinco mutaciones puntuales estandarizadas por el laboratorio de biología molecular del mencionado centro (Intrón 2, delección 8pb, Q318X, I172N y P30L).⁽⁷⁾

En el segundo encuentro, se les realizó una determinación de 17 hidroxiprogesterona (17OHP) por radioinmunoanálisis a aquellos familiares donde se detectó alguna de las mutaciones exploradas, con el propósito de detectar los casos.⁽⁸⁾

Durante toda la investigación, desde su diseño y concepción se respetaron los principios de la ética médica establecidos en la Declaración de Helsinki. Se contó, además, con el consentimiento informado de todos los sujetos estudiados, respetándose en todo momento el derecho a la privacidad de las personas.⁽⁹⁾

Se obtuvieron distribuciones de frecuencia de variables cualitativas; y media (o mediana) y distribución estándar (o rango intercuartil) de las cuantitativas según fuera normal (o no) la distribución. En todos los casos fue considerado un valor de 0.05 como nivel de significación estadística.

RESULTADOS

A punto de partida de estas 31 familias motivo de estudio se lograron analizar 32 progenitores (familias 2, 3, 4, 5, 6, 7, 15, 16, 20, 22, 25, 28, 30, 33, 35, 44 y 49); y tres hermanos de estos pacientes (familias 2, 4 y 25), todos ellos aparentemente asintomáticos.

Manifestaciones fenotípicas e historia reproductiva

En relación con los antecedentes y la historia reproductiva de los familiares de primer grado de los pacientes estudiados (55), en 23 (41,8 %) se identificó algún elemento patológico, 10 (18,2 %) infertilidad, 9 (16,4 %) refirió abortos espontáneos, 7 (12,8 %) hirsutismo, 5 (9,1 %) antecedentes de diagnóstico conocido de HSC en hermanos, 2 (3,6 %) muerte neonatal de causa no precisada, igual porcentaje de familiares con síndrome de ovarios poliquísticos y uno de ellos con un familiar con genitales atípicos al momento del nacimiento, sin diagnóstico etiológico conocido. En ninguna familia se detectó historia de consanguinidad.

Fue estudiada la hermana de una paciente (familia 2) con diagnóstico de HSC en su forma clásica perdedora de sal (Homocigótica I172N, heterocigótica Intrón 2, P30L y del 8pb), producto de embarazo gemelar, peso y talla natales normales, ganancia ponderal adecuada, desarrollo puberal normal y sin sintomatología clínica. Se realizó 17OHP y el valor obtenido fue de 0,8 ng/ml, considerado normal. En el estudio genético resultó heterocigótica para la mutación Q318X.

Se estudió hermano de paciente con HSC forma clásica perdedora de sal (Homocigótica para Intrón 2) perteneciente a la familia 4. Producto de gestación a término, peso y talla natales normales, genitales externos masculinos, sin signos ni síntomas de la condición en estudio. Se realizó determinación de 17 OHP que resultó en 3,45ng/ml y el estudio genético reveló mutación Intrón 2 (g.655C/A>G) en heterocigosis.

El tercer hermano estudiado correspondió con la paciente de la familia 25, con HSC, forma clásica perdedora de sal (Heterocigótica Q318X). Sujeto producto de gestación a término, que cursó con enfermedad hipertensiva del embarazo, tratado con metildopa, parto eutócico, peso y talla natales normales, sin sintomatología clínica. Determinación de 17OHP en la pesquisa neonatal dentro de valores normales. El estudio genético reveló igual mutación que su hermana (Q318X), en heterocigosis.

Análisis mutacional en los familiares de pacientes

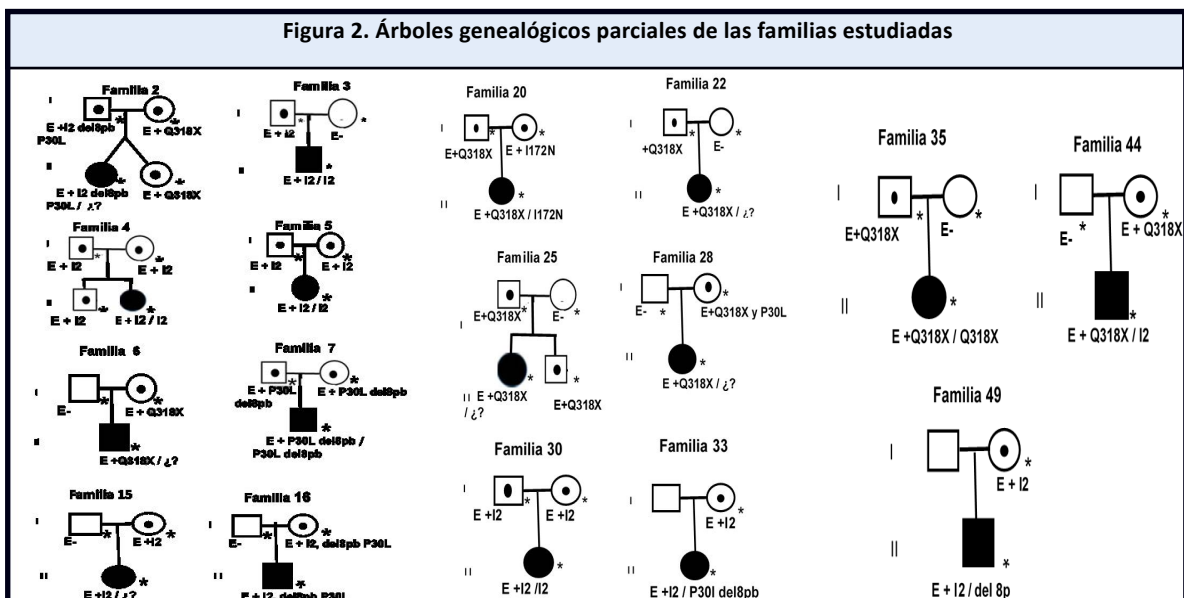
Una vez identificadas las mutaciones en los pacientes, se procedió a la identificación de las mutaciones del gen de la 21 OHasa en los familiares de los pacientes, acudieron al estudio 32 progenitores y 3 hermanos, no afectados clínicamente.

Se analizó seguidamente la segregación de las mutaciones encontradas en cada uno de los árboles genealógicos, con el fin de genotipar a cada uno de los individuos estudiados; identificar las mutaciones originadas de novo y conocer los portadores en cada seno familiar.

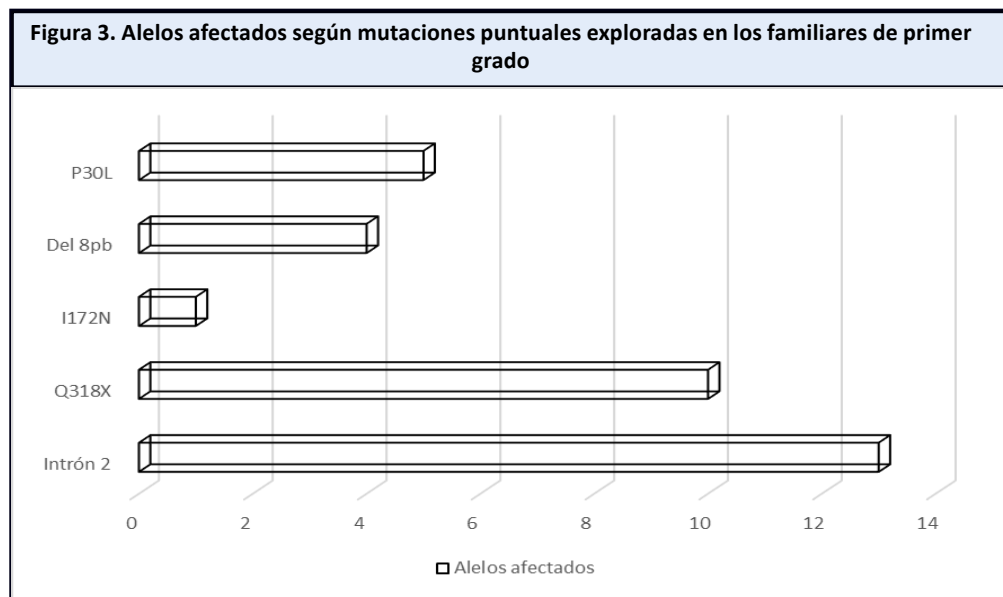
En las familias estudiadas, las mutaciones fueron detectadas al menos en uno de los progenitores.

En todos los progenitores, independientemente del tipo de mutación presente, se corroboró estar asintomáticos. Fueron 20 heterocigotos, ninguno de los padres resultó homocigótico y cuatro presentaron más de una mutación en heterocigosis (familias 2 y 17, Intrón 2, del 8pb y P30L, y la familia 7, del 8pb y P30L), correspondiendo la clínica de sus hijos, con las formas de presentación más graves.

No se pudo concluir el resto del estudio por limitaciones de reactivos.



En la Figura 3, se observa el número de alelos afectados según mutaciones puntuales exploradas en los familiares de primera línea. Existió un predominio de la mutación g.655C/A>G en 13 alelos (39,4%); seguido de g.1994C>T en 10 alelos (30,3%) y P30L en cinco alelos (15,1%).



Luego de estudiados los familiares de primer grado, en aquellas personas donde se identificaron mutaciones, se realizó la determinación de 17OHprogesterona con el propósito de diferenciar las formas crípticas de la enfermedad con el estado de portadores.

Se identificaron mutaciones puntuales en 26 familiares de primer grado de individuos afectados. Todos los valores de 17 OHP estuvieron dentro de parámetros normales, excepto en 2 padres (17OHP= 48,7ng/ml, familia 7 y 17OHP= 52,1 ng/ml, familia 52 Hetero P30L), ambos asintomáticos, razón por la cual se consideraron formas crípticas de presentación de la enfermedad. La media obtenida fue 12,4ng/ ml.

DISCUSIÓN

La HSC constituye la enfermedad adrenal de presentación más común en la infancia. La deficiencia de 21OHasa, por su parte, se identifica como la causa más frecuente de esta entidad.⁽¹⁰⁾ Es causada por mutaciones en el gen CYP21 (también llamado CYP21A2). Este gen se localiza en la región altamente polimórfica del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA), en el cromosoma 6, locus 6p21.3, acompañado de un pseudogen CYP21P (CYP21A1P), con el que presenta una homología de 98 %. Ambos se sitúan en tándem después de la porción 3' terminal de los 2 genes que codifican para el cuarto componente del complemento (C4A y C4B).⁽¹¹⁾

Por ser una enfermedad de transmisión autosómico recesiva, el paciente con HSC debe tener siempre los dos alelos (el materno y el paterno) afectados. Las anomalías del gen son variables e incluyen desde mutaciones puntuales (que resultan en la síntesis de una proteína con actividad enzimática variable) hasta deleciones (ruptura y pérdida de la información genética). Esta última alteración implica, obviamente, la ausencia completa de actividad 21OHasa. El fenotipo clínico resultará de la combinación de la anomalía en la expresión de los dos alelos CYP21A2.^(12,13)

El análisis de ambos progenitores permite establecer la segregación de las mutaciones encontradas en cada uno de los árboles familiares y conocer realmente la fase de las diferentes mutaciones observadas, al mismo tiempo que hace posible detectar los portadores de la deficiencia en el núcleo familiar, lo que constituye el primer paso para diagnosticar las formas crípticas de la deficiencia a través del estudio bioquímico posteriormente.⁽¹⁴⁾

En la familia 2, la paciente con expresión de la enfermedad puede haber sido una microconversión por un entrecruzamiento desigual originando una nueva variante alélica patogénica resultado de un genotipo heterocigótico compuesto; criterio este que se cumple para las familias 6, 15, 22, 25, 35.

Siendo la madre negativa a las mutaciones estudiadas, en la familia 3, y el hijo homocigótico para la mutación heredada del padre, es posible pensar en una disomía uniparental paterna.

En el caso de la familia 16, la condición que explicaría los resultados sería, la madre heterocigótica en cis para las dos mutaciones, que trasmite al hijo por recombinación en trans.

En la familia 28, mujer heterocigótica para esas dos mutaciones en cis y la hija solo para Q318X y la presencia de una variante paterna no identificada.

Familia 33: El padre no pudo ser estudiado, pero se espera que ha de ser portador al menos, de una las mutaciones identificadas en su hija (P30L y del 8pb).

Familia 35: La madre fue negativa al estudio molecular de las mutaciones a nuestro alcance, pero puede ser portadora de alguna de las variantes alélicas del gen CYP21A2 reportadas.

Familia 44. El padre no pudo ser estudiado pero por análisis de segregación puede ser heterocigótico para la mutación Intrón 2 (g.655C/A>G).

Familia 49. El padre no pudo ser estudiado, pero puede ser portador de la variante del 8pb, del gen *CYP21A2*.

Los resultados del estudio genético familiar mostraron que en las 19 familias estudiadas, al menos uno de los progenitores era portador de alteraciones génicas. Algunos de ellos con mutaciones severas, por lo menos, en uno de sus dos cromosomas. Este resultado revela que la correspondiente segregación de las mutaciones ha sido encontrada en todos los casos, lo que indica la no existencia de mutaciones de novo.^(12,15)

De esta forma, se estableció la caracterización genética de los pacientes con las mutaciones detectadas y sus familiares portadores, lo que complementa su diagnóstico clínico y bioquímico.

El hecho de observar personas afectadas con aparentemente idéntico genotipo *CYP21*, hasta donde el presente estudio pudo constatar, pero con diferente forma clínica y formas asintomáticas (crípticos), hace pensar que otros factores genéticos o ambientales deben estar implicados en la variabilidad de esta expresión clínica, diferente de las mutaciones del *CYP21B*, las observaciones de otros estudios,^(15,16) parecen apoyar esta interpretación.

En las formas crípticas de presentación de la enfermedad, por su parte, los sujetos presentaron la mutación, valores elevados de 17 OHP; sin embargo, no presentaban clínica de la enfermedad. En aquellos individuos donde se detectó el daño genético, los valores de 17OHP estaban en parámetros normales y no presentaban manifestaciones clínicas se consideraron portadores.

Al analizar algunas manifestaciones clínicas en familiares de primer grado resultó que existían elementos especialmente, en la historia reproductiva que pudieran relacionarse con la entidad de estudio; aunque no se puede asegurar en todos los casos, una relación causal. El hirsutismo con alta frecuencia acompaña el cortejo sintomático de la HSC.⁽¹⁷⁾ La disminución de la fertilidad tiene numerosas causas en estas pacientes, entre ellas está bien reconocida la HSC no controlada como manifestación de hiperandrogenismo ovárico, ovarios poliquísticos y anovulación crónica. De ahí la importancia de descartar esta entidad como su causa, especialmente en aquellas mujeres con antecedentes familiares de HSC.⁽¹⁸⁾ Por otra parte, la historia de abortos espontáneos o muertes neonatales de etiología no precisada pueden ser resultado de una HSC no diagnosticada.^(18,19)

Los resultados de estudios moleculares en pacientes y familiares de primera línea, abren las puertas para el asesoramiento genético, el cual constituye un pilar importante en el manejo de los sujetos con HSC. Debe realizarse en todas aquellas familias donde esta entidad se diagnostique. Esta asesoría contribuye a facilitar a los padres y otros familiares cercanos, toda la información relacionada con la enfermedad, el origen, evolución, manejo, complicaciones, tratamiento y pronóstico de la misma.

Para una pareja portadora, el riesgo de recurrencia de tener un hijo enfermo es de 25 % y de 50 % de tener hijos igualmente portadores. Las pacientes con mutaciones leves en ambos alelos no tienen riesgo de descendencia con la forma clásica.⁽¹⁶⁾

Si uno de los padres tiene una HSC de tipo clásica y se desconoce el estado del otro progenitor, asumiendo que la frecuencia de portadores para la población general es de 1:16 000 o 0.00625 %, el riesgo a priori de padecer una forma virilizante sería de 0.001 %.

Por otra parte, hijos de madre con HSC de forma no clásica tienen también un riesgo incrementado de padecer la forma clásica, ya que 50 % de las madres con la forma no clásica son heterocigóticas compuestas, para clásica y no clásica. El riesgo sería 1/2 del alelo clásico en la madre portadora x 0.00625 del portador de la población general x 1/4 de cada alelo clásico de transmitirse x 1/2 de que el feto sea hembra y sería del 0.0004 %.⁽²⁰⁾

En la actualidad, las opciones de diagnóstico prenatal abren un amplio espectro dentro del asesoramiento genético, con dilemas éticos relacionados con las posibles formas clínicas de la enfermedad. Algunos autores consideran la indicación del estudio prenatal solamente con el antecedente de un hijo diagnosticado con la forma clásica.⁽²¹⁾

Si se consideran las posibilidades de formas crípticas y la heterogeneidad alélica, sería más certero, en familias con un antecedente, realizar estudio genético a los padres antes de la concepción. Esto permite manejar los riesgos posibles con mayor claridad, considerar el patrón de herencia de la enfermedad y ofrecer el diagnóstico prenatal a las parejas en riesgo. A partir de los resultados es posible considerarlos si las parejas desean una nueva gestación.

Las mujeres heterocigóticas compuestas para una mutación severa, al salir embarazadas, tienen indicación de realizar diagnóstico prenatal a la descendencia.^(22,23)

El desarrollo de las técnicas de biología molecular realizadas directamente a partir del ácido desoxirribonucleico de fragmentos extraídos por punción de vellosidades coriónicas, ha permitido aumentar la fiabilidad del diagnóstico prenatal. Una vez realizado el estudio familiar, el diagnóstico prenatal es posible mediante la investigación directa de las mutaciones de la familia en cuestión.

El diagnóstico prenatal, por la caracterización de las mutaciones ofrece la oportunidad, en caso de que haya un feto afectado, de que se interrumpa el embarazo si la pareja lo decide o de instaurar, si así se dispusiera, un tratamiento intraútero en caso de fetos con cariotipo 46 XX, con el propósito de evitar o atenuar la virilización del feto femenino afectado.^(20,24)

Anteriormente, se había sugerido que los individuos con formas no clásicas, en particular críptica más tarde se volverían sintomáticos^(25,26) y se beneficiarían del tratamiento con glucocorticoides dado el costo y los efectos psicológicos del hiperandrogenismo.⁽²³⁾

Los hallazgos del presente estudio no apoyan esto, concuerdan con lo referido por Nadangopal y col.⁽²⁷⁾ y demuestran que los adultos diagnosticados con estas formas de presentación basados en estudios genéticos familiares parecen en su mayoría asintomáticos. Elementos que apoyan la recomendación de las recientes guías para diagnóstico y tratamiento de la Endocrine Society⁽²⁸⁾ de no tratar a las personas asintomáticas con formas no clásicas. Además, utilizar la genotipificación para confirmación en los recién nacidos que dan positivo en la prueba de detección neonatal o cuando el escenario bioquímico neonatal requiere más exámenes.

Con todos los elementos, el asesoramiento se debe realizar de manera personalizada, diferenciada e integral. Cada familia tiene sus peculiaridades, necesidades y posibilidades, le corresponde al proveedor de salud identificarlas y manejarlas de la manera más adecuada.⁽²⁹⁾

La mayor **limitación** de esta investigación radica en la carencia de la tecnología requerida para el análisis molecular, específicamente la secuenciación directa, que impidió la identificación del genotipo en la totalidad de los pacientes y en los familiares estudiados y otro aspecto a considerar es que todos los familiares de primera línea no pudieron investigarse por limitaciones de recursos en el laboratorio de biología molecular. Sin embargo, a pesar de los elementos descritos, los autores consideran que los resultados constituyen una importante aproximación al conocimiento del tema en los pacientes cubanos y sus familias.

Estos resultados permiten trazar nuevas estrategias en el seguimiento clínico y asesoramiento genético de las familias donde se está segregando el gen mutado, así como en el perfeccionamiento y la retroalimentación del programa de tamizaje neonatal. Se abre el camino a una caracterización detallada de los pacientes con esta entidad clínica y con ello a una interpretación desde el punto de vista fisiopatológico más clara. Permite además, establecer mejores estrategias de seguimiento, un pronóstico más acertado y la posibilidad de establecer asesoramiento genético de mayor precisión. Todos estos elementos redundarán en una atención médica de excelencia y mejor calidad de vida de los pacientes con esta entidad y sus familiares.

CONCLUSIONES

La historia familiar reveló como elementos más frecuentes infertilidad en primera o segunda línea, abortos espontáneos e hirsutismo, aunque en bajos porcentajes.

Se estableció el diagnóstico de portadores de alelos con mutaciones severas en familiares de las formas clásicas, lo que resulta de gran importancia en el consejo genético familiar, así como en el diagnóstico y tratamiento prenatales.

Las mutaciones más frecuentes observadas en los familiares de primera línea de los pacientes cubanos con hiperplasia adrenal congénita fueron Intrón 2 (g.655C/A>G) y Q318X (g.1994C>T). El análisis de los familiares de primer grado en este estudio, permitió diagnosticar formas crípticas de la deficiencia enzimática.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. El-Maouche D, Arlt W, Merke DP. Congenital adrenal hyperplasia. *Lancet*. 2017; 17:31431–9. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)31431-9
2. Stewart MP, Krone PN. The adrenal cortex. Congenital adrenal hyperplasia. En: Melmed S, Polonsky SK, Larsen RP, Kronenberg MH. *Williams Textbook of Endocrinology*. 13th edition. ELSEVIER Barcelona 2017. p 490-555.
3. Parsa AA, New MI. Steroid 21-hydroxylase deficiency in congenital adrenal hyperplasia. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2017;165:2–11. DOI:10.1016/j.jsbmb.2016.06.015
4. Gidlöf S, Falhammar H, Thilén A, von Döbeln U, Ritzén M, Wedell A, Nordenström A. One hundred years of congenital adrenal hyperplasia in Sweden: a retrospective, population-based cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2013; 1:35–42. DOI: 10.1016/S2213-8587(13)70007-X
5. Espinosa RT, Collazo MT, Lantigua CPA, Agramonte MA, Domínguez AE, Falhammar F. Molecular diagnosis of patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *BMC Endocrine Disorders*. 2020; 20:165. DOI: 10.1186/s12902-020-00643-z
6. Espinosa RT, Collazo MT, Lantigua CPA, Agramonte MA, Domínguez AE, Falhammar F. Genotype-phenotype correlation in patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency in Cuba. *Int. J. Endocrinol.* 2021. Jan 6;2021:9316284. DOI: 10.1155/2021/9316284.

7. Oriola J, Plensa I, Machuca I, Pavia C, Rivera – Fillat F. Rapid screening method for detecting mutations in the 21 hydroxylase gen. *Clin Chem.* 1997; 43: 557-61.
8. Choi JH, Kim GH, Yoo HW. Recent advances in biochemical and molecular analysis of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Ann Pediatr Endocrinol Metab.* 2016; 21(1):1–6. DOI: 10.6065/apem.2016.21.1.1
9. Declaración de Helsinki de la AMM – principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Asociación Médica Mundial. Disponible en: <https://www.wma.net/es/politicas-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>
10. Piensa NM. La hiperplasia suprarrenal congénita por defecto en la enzima 21-hidroxilasa: caracterización por el sistema HLA y aportación de la biología molecular. Tesis de doctorado. Barcelona. 2003. Disponible en: <https://www.worldcat.org/title/hiperplasia-suprarrenal-congenita-por-defecto-en-la-enzima-21-hidroxilasa-caracterizacion-por-el-sistema-hla-y-aportacion-de-la-biologia-molecular/oclc/803622899>
11. Dardis A, Marino R, Bergada I, Escobar ME, Gryngarten M, Rivarola MA et al. Análisis molecular de las mutaciones más frecuentes asociadas a Hiperplasia adrenal congénita por déficit de 21 hidroxilasa. *MEDICINA.* 2001; 61(1):28-34.
12. Concolino P, Costella A. Congenital adrenal hyperplasia (CAH) due to 21-hydroxylase deficiency: a comprehensive focus on 233 pathogenic variants of CYP21A2 gene. *Mol Diag Ther.* 2018;22(3):261 –80. DOI: 10.1007/s40291-018-0319-y
13. Hannah-Shmouni F, Chen W, Merke DP. Genetics of Congenital Adrenal Hyperplasia. *Endocrinol Metab Clin N Am.* 2017; 46(2):435-58. DOI: 10.1016/j.ecl.2017.01.008
14. Baumgartner-PS, Witsch-BM, Hoepfner W. EMQN best practice guidelines for molecular genetic testing and reporting of 21-hydroxylase deficiency. *Eur J Hum Genet.* 2020; 28:1341–67. DOI: 10.1038/s41431-020-0653-5
15. New MI, Abraham M, González B, Domic 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 Nat Acad Sci USA.* 2013;110(7): 2611 –6. DOI: 10.1073/pnas.1300057110
16. Lantigua-Cruz A. Transmisión de simples mutaciones. En: Bello-Álvarez D. editor. *Introducción a la Genética Médica.* 2da ed. La Habana: Ciencias Médicas; 2011. p.143-64.
17. Espinosa Reyes TM, Leyva Cruz D, Domínguez Alonso E, Vera Pérez G, Agramonte Machado A. Pubertad en pacientes con hiperplasia adrenal congénita por déficit de 21hidroxilasa y asignación femenina. *Rev Cubana Endocrinol [Internet].* 2020 Abr. [Citado 2021 Mayo 10] ; 31(1) : e187. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-29532020000100007&lng=es.
18. Gomes LG, Bachega TA, Mendonca BB. Classic congenital adrenal hyperplasia and its impact on reproduction. *Fertility and Sterility.* 2019;111(1):7-12. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2018.11.037
19. Espinosa Reyes TM, Cruz Leyva D, Agramonte Machado A, Vera Pérez G, Domínguez Alonso E. Salud sexual y reproductiva en pacientes con hiperplasia adrenal congénita asignadas como femeninas. *Rev Cubana Endocrinol [Internet].* 2020 Ago. [Citado 2021 Mayo 10] ; 31(2) : e184. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-29532020000200004&lng=es
20. Mithra L, Narasimhan MB, Ahmed K. Genetics of congenital adrenal hyperplasia and genotype-phenotype correlation. *Fertility and Sterility,* 2019; 111(1): 24-9. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2018.11.007
21. Espinosa RT. Diagnóstico prenatal de la hiperplasia adrenal congénita, una realidad. *Rev Cubana Endocrinol [Internet].* 2014 Dic. [Citado 2020 Nov 02] ;25(3):141-8.Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-29532014000300002&lng=es.
22. New MI, Tong YK, Yuen T, Jiang P, Pina C, Chan KC et al. Noninvasive prenatal diagnosis of congenital adrenal hyperplasia using cell-free fetal DNA in maternal plasma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99(6):1022–30. DOI: 10.1210/jc.2014-1118
23. Miller WL, Witchel SF. Prenatal treatment of congenital adrenal hyperplasia: risks outweigh benefits. *Am J Obstet Gynecol.* 2013; 208(5):354–9. DOI: 10.1016/j.ajog.2012.10.885
24. Efrat Z, Perri T, Ramati E, Tugendreich, D, Meizner I. Fetal gender assignment by first trimester ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2006; 27:619-21. DOI: 10.1002/uog.2674
25. Levine LS, Dupont B, Lorenzen F, Pang S, Pollack M, Oberfield S et al. Cryptic 21-hydroxylase deficiency in families of patients with classical congenital adrenal hyperplasia. *J. Clin. Endocrinol.* 1980;51:1316–24. DOI: 10.1210/jcem-51-6-1316
26. New MI. Extensive clinical experience: nonclassical 21-hydroxylase deficiency. *J. Clin. Endocrinol.* 2006;91:4205–14. DOI: 10.1210/jc.2006-1645

27. Nandagopal R, Sinaii N, Avila N, Van Ryzin C, Chen W, Finkielstain G et al. Phenotypic profiling of parents with cryptic non classic congenital adrenal hyperplasia: findings in 145 unrelated families. *Eur J Endocrinol.* 2011; 164(6): 977–84. DOI: 10.1530/EJE-11-0019
28. Speiser PW, Arlt W, Richard J, Auchus RJ, Baskin SL, Conway SG et al. An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018; 103(11):4043–88. Disponible en: <https://doi.org/10.1210/jc.2018-01865>
29. Fernández BH. Consejo genético en la hiperplasia suprarrenal congénita por déficit de 21-hidroxilasa. *An Pediatr (Barc).* 2011;76(1): 51-2. DOI:10.1016/j.anpedi.2011.08.004.

Financiamiento

La presente investigación no ha recibido ayudas específicas provenientes de agencias del sector público, sector comercial o entidades sin fines de lucro.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Contribución de autoría

Tania Mayvel Espinosa Reyes. Conceptualización, diseño metodológico, análisis de resultados, elaboración y edición del manuscrito final.

Paulina Aracely Lantigua Cruz. Análisis de los resultados, revisión del manuscrito final.

Teresa Collazo Mesa. Realización de estudios moleculares, análisis de resultados, edición y revisión del manuscrito final.

Emma Domínguez Alonso. Curación de datos, procesamiento de datos.

Todas las autoras participamos en la discusión de los resultados y hemos leído, revisado y aprobado el texto final.