

Hiperplasia suprarrenal congénita

Carlos Fardella B.¹

Resumen

La esteroidogénesis suprarrenal es un proceso complejo y secuencial que involucra a una serie de enzimas, las cuales actuando en forma coordinada sobre el colesterol determinan la síntesis de glucocorticoides y mineralocorticoides. El término hiperplasia suprarrenal congénita ha sido tradicionalmente usado para denominar al conjunto de alteraciones en la esteroidogénesis suprarrenal que determinan un decremento en la biosíntesis de cortisol. Este hecho determina una elevación compensatoria de ACTH, la cual, al estimular la síntesis esteroidal, lleva a un aumento de la producción de esteroides localizados antes del bloqueo. El resultado final es una diversidad de cuadros clínicos determinados por el déficit de cortisol y hormonas distales al bloqueo y al exceso de hormonas y metabolitos proximales al bloqueo. Los cuadros más frecuentes de hiperplasia suprarrenal congénita son los déficit de 21 y 11-hidroxilasa, que serán revisados en conjunto con otros déficit enzimáticos de presentación menos frecuente.

(Palabras clave: suprarrenal, esteroides, síntesis, hiperplasia suprarrenal congénita.)

Congenital adrenal hyperplasia

Adrenal steroid synthesis is a complex sequential process involving a series of enzymes acting in a coordinated fashion on cholesterol to produce gluco- and mineralocorticoids. Congenital adrenal hyperplasia has traditionally been used to describe the alterations in adrenal steroid synthesis which result in decreased cortisol production. There is a compensatory elevation of ACTH which in increasing the drive on steroid production leads to increased levels of pre-block products. The final result is a variety of clinical pictures determined by cortisol deficiency and excess of hormones and products proximal to the defect. 21 and 11 hydroxylase deficiency are the most common forms of CAH which will be reviewed along with the less common forms of enzyme deficiency.

(Key words: adrenal, steroid, synthesis, congenital adrenal hyperplasia.)

INTRODUCCIÓN

La esteroidogénesis suprarrenal es un proceso complejo y secuencial que involucra a una serie de enzimas, las cuales actuando sobre el colesterol producen una gran variedad de esteroides esenciales para la vida (figura 1). El primer paso en la biosíntesis de todas las hormonas suprarrenales es la conversión del colesterol a pregnenolona por acción del citocromo P450scc. Esta en-

zima es el punto de partida para la síntesis de glucocorticoides y mineralocorticoides.

La biosíntesis de glucocorticoides desde pregnenolona requiere la acción secuencial de la 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa y los citocromos P450c17, P450c21 y P450c11 β , que convierten la pregnenolona en 17OH-pregnenolona, 17OH-progesterona, 11-deoxicortisol y cortisol. La biosíntesis de mineralocorticoides desde pregnenolona requiere la acción secuencial de solo 3 enzimas que son la 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa y los citocromos P450c21 y P450c11AS, que convierten la pregnenolona en deoxicorticosterona, corticosterona, 18OH-corticosterona y aldosterona.

Las enzimas que controlan los diferentes pasos de la esteroidogénesis suprarrenal

1. Departamento de Endocrinología y Centro de Investigaciones Médicas. Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Correspondencia: Dr. Carlos Fardella B. E-mail: cfardella.med.puc.cl

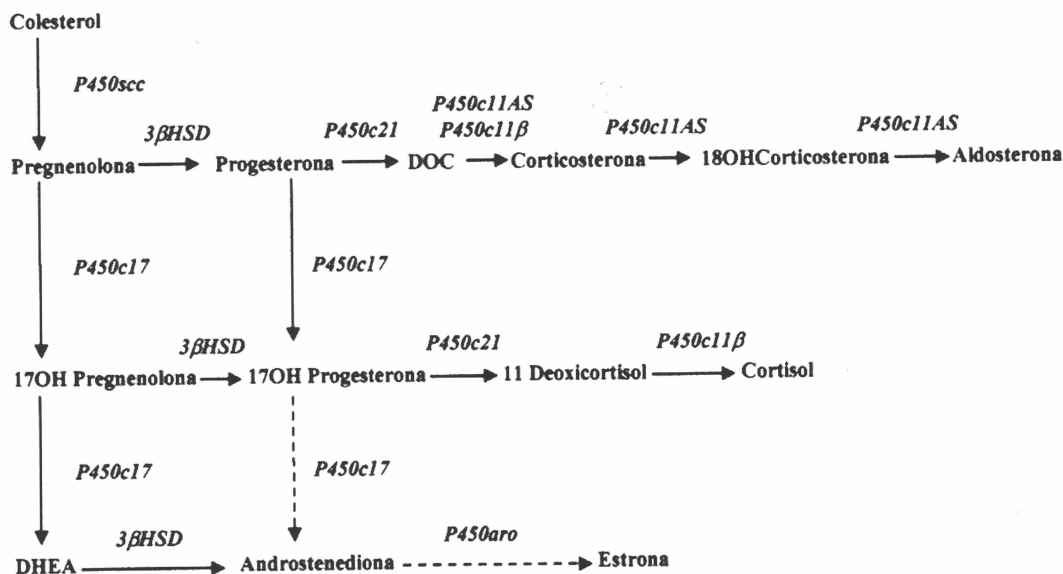


Figura 1: Esquema de las diferentes vías enzimáticas que participan en la biosíntesis de hormonas esteroidales a nivel de la glándula suprarrenal.

están codificadas por genes. Estos genes son susceptibles de sufrir alteraciones que determinan la pérdida total o parcial de la función de la enzima y con ello el bloqueo total o parcial de la esteroidogénesis. Dependiendo del punto donde se produzca el bloqueo y de la magnitud de este serán las consecuencias clínicas que sufran los sujetos afectados. Así, cuando la falla enzimática es muy inicial y grave puede que no se produzca ningún esteroide, siendo el defecto incompatible con la vida; en otros casos el defecto es distal y leve y puede pasar inadvertido.

El cuadro clínico resultante de un defecto en la biosíntesis de cortisol se llama hiperplasia suprarrenal congénita (HSRC). El descenso del cortisol determina en forma compensatoria la elevación de ACTH, la que estimula la síntesis esteroidal y lleva a un aumento de la producción de esteroides cuya síntesis no está bloqueada. El resultado es una diversidad de cuadros clínicos dependientes del déficit de cortisol y hormonas distales al bloqueo y, por otra, del exceso de hormonas y metabolitos proximales al bloqueo.

DEFICIENCIA DE 21-HIDROXILASA

La HSRC tiene su origen^{1, 2} en más del 90% de los casos en una deficiencia de la 21-hidroxilasa (21-OH). La prevalencia de este déficit es variable, dependiendo de la población estudiada, pero se estima que en los casos más severos (forma clásica) alcanza a 1/12 000 nacimientos y en los casos menos graves (forma no clásica) a 1/100 a 1/1 000 nacidos vivos³.

La 21-hidroxilación suprarrenal es catalizada por el citocromo P450c21, enzima que convierte progesterona a deoxicorticosterona y 17-hidroxiprogesterona a 11-deoxicortisol, lo que culmina con la síntesis de aldosterona y cortisol, respectivamente. En la HSRC por déficit de 21-OH hay una disminución de la síntesis de cortisol, induciéndose la elevación de los niveles de ACTH y la estimulación de la esteroidogénesis suprarrenal, la cual es derivada hacia la síntesis de andrógenos debido al bloqueo enzimático⁴.

La severidad del compromiso de la función del P450c21 determina la expresión clínica del déficit, que se manifiesta por grados variables de deficiencia de cortisol y aldosterona.

terona, asociados a exceso de andrógenos. En los casos más severos, en los que existe una completa ausencia de la función del citocromo, los pacientes presentan crisis de pérdida de sal y virilización genital neonatal, lo que determina ambigüedad genital en los neonatos de sexo femenino (forma clásica perdedora de sal). En otras oportunidades el déficit es menos severo y puede manifestarse solo por virilización (forma clásica virilizante simple) o por alteraciones clínicas mínimas (forma no clásica). Esta última forma de presentación incluye a pacientes que presentan un hiperandrogenismo tardío, como son las mujeres adolescentes con hirsutismo o trastornos menstruales¹⁻⁴.

El diagnóstico de esta afección puede certificarse por la elevación de la 17-hidroxiprogesterona, compuesto previo al bloqueo, el cual ve impedido su paso a 11-deoxicortisol. En las formas clásicas, la elevación de la 17-hidroxiprogesterona es generalmente más de 10 veces el valor normal. En las formas no clásicas, la elevación de 17-hidroxiprogesterona puede ser leve; sin embargo, si el resultado es > 6 ng/dl, el diagnóstico es muy probable. Al contrario, valores < 2 ng/dl descartan el diagnóstico. En caso de dudas o cuando los valores se encuentran entre 2 y 6 ng/dl, es recomendable realizar un test de estímulo con ACTH, considerándose como anormal una respuesta > 10 ng/dl⁵.

La deficiencia de P450c21 se debe a alteraciones en el gen que codifica para esta enzima denominado CYP21 que está localizado en el brazo corto del cromosoma 6⁶. Los mecanismos de daño génico responsables del defecto son principalmente la conversión génica y la delección parcial o total del gen. La conversión génica es la causa más frecuente y se estima que es responsable de más del 80% de los casos con deficiencia de 21-OH⁷. La conversión génica conduce a la inactivación del gen CYP21 al incorporarse a este secuencias normalmente presentes en el pseudogén inactivo y altamente homólogo, denominado CYP21P. De esta forma el traspaso de secuencias de un gen inactivo al activo conduce a la síntesis de una enzima con una reducida o nula actividad, determinando la caída en los niveles de cortisol y aldosterona.

Los mecanismos de daño génico han sido estudiados en diferentes grupos étnicos, determinándose que un número reducido de alteraciones da cuenta de la mayoría

de los casos de deficiencia de 21-OH⁸⁻¹⁸. Recientemente nuestro grupo estudió a pacientes chilenos con las diferentes formas clínicas de la enfermedad (tabla 1). En la forma clásica perdedora de sal, los sujetos afectados presentaban mayoritariamente delecciones del gen, alteraciones del *splicing* a nivel del intron 2 o las mutaciones R357W y Q319X, lesiones que explicaban más del 70% de los casos estudiados^{19,20}. En los pacientes con la forma virilizante simple las alteraciones más frecuentes resultaron ser las mutaciones I173N y la V282L²¹. En los pacientes con la forma no clásica o de expresión tardía alrededor del 30% de ellos presentaban la mutación homocigota V282L.

La frecuencia de delección del gen o alteraciones a nivel del *splicing* del intron 2 encontrada en nuestro estudio, fue similar a la demostrada previamente en población caucásica⁸⁻¹⁶ y asiática^{17,18}, en las cuales estas alteraciones constituyen entre el 40-70% de los defectos genéticos encontrados en pa-

Tabla 1

Frecuencia alélica (%) de mutaciones en pacientes chilenos con déficit de 21-hidroxilasa

	Perdedora de sal	Virilizante simple	Forma no clásica
Delección	22,1	8,3	3,6
I2splice	17,1	5,3	7,1
R357W	12,1	0,0	3,6
Q319X	9,3	5,3	0,0
I173N	5,7	31,6	3,6
Cluster E6	2,1	0,0	0,0
F308 insT	0,0	2,6	0,0
V282L	0,7	10,5	42,9

I2 splice: cambio de A → G en el intron 2 que crea un sitio de *splicing* aberrante.

R357W: cambio de arginina por triptofano en el codón 357.

Q319X: cambio de glutamina a codón de término en la posición 319.

I173N: cambio de isoleucina a asparragina en el codón 173.

Cluster E6: cambio de isoleucina-valina-metionina a asparragina-glutamina-lisina en los codones 237-238-240.

F308 insT: inserción de T a nivel del codón 308.

V282L: cambio de valina a leucina en el codón 282.

cientes perdedores de sal. La frecuencia de la mutación puntual R357W fue 2 veces más alta que la detectada en población caucásica, pero similar a la detectada en población de Japón y Taiwán, lo que podría explicarse por el origen asiático de los indígenas americanos^{22, 23}. La alta frecuencia de la mutación Q319X encontrada en nuestra población, así como en Argentina²⁴ e Italia^{11,12}, es probablemente el resultado de la inmigración italiana que ocurrió en ambos países.

La caracterización molecular de las distintas formas de presentación de esta enfermedad ha orientado su diagnóstico y posibilitado el consejo genético de los pacientes y familiares afectados con las formas más graves de la enfermedad. Así, en la actualidad, es posible realizar el diagnóstico prenatal de esta afección a través del estudio del ADN derivado de vellosidades coriales. Este examen puede realizarse tan precozmente como en la octava semana de gestación y permite con ello instaurar su tratamiento²⁵.

El tratamiento de los pacientes afectados tiene como objeto frenar la hipersecreción de ACTH y así disminuir la producción de andrógenos por la suprarrenal. En la etapa prenatal, los andrógenos pueden inducir la virilización de fetos femeninos y es por esta razón que el tratamiento debe ser instaurado precozmente, idealmente antes de la quinta semana. Como terapia se usa la dexametasona en dosis de alrededor de 20 µg/kg. de peso materno/día. En la terapia postnatal puede usarse cortisol en dosis de $12,5 \pm 3,0$ mg/m², divididos en 2 ó 3 dosis, siendo más alta la dosis nocturna con el fin de frenar el alza de ACTH. Sin embargo, las dosis deben ser ajustadas en forma individual, tratando de normalizar la velocidad de crecimiento, el aumento de la edad ósea y evitar la aparición de signos cushingoideos. En pacientes que hayan terminado su crecimiento es posible usar dexametasona, glucocorticoide de vida media larga, en dosis de 0,25 a 0,5 mg/día, administrados en la noche. Como los glucocorticoides y en particular la dexametasona no tiene efecto mineralocorticoide, los pacientes afectados con la forma perdedora de sal deben recibir además un mineralocorticoide como la fludrocortisona, en dosis de 0,05 a 0,1 mg/día, suficientes como para frenar la pérdida de sal y con ello la deshidratación.

DEFICIENCIA DE 11 β -HIDROXILASA

La deficiencia de 11 β -hidroxilasa es la segunda causa más frecuente de hiperplasia suprarrenal congénita, dando cuenta del 5% de los pacientes afectados. Sin embargo, existen poblaciones en que esta deficiencia es mucho más frecuente como ocurre en descendientes de judíos marroquíes en que la incidencia es de 1/5 000 - 1/7 000^{4, 26, 27}.

La 11 β -hidroxilación suprarrenal es catalizada por el citocromo P450c11 β . Este citocromo es el encargado de llevar a cabo la conversión del 11-deoxicortisol a cortisol. Como consecuencia del bloqueo, la producción de cortisol disminuye y con ello aumenta la secreción pituitaria de ACTH, la cual estimula la esteroidogénesis suprarrenal. A consecuencia del bloqueo el 11-deoxicortisol es convertido a andrógenos, lo cual lleva a la virilización de fetos femeninos en útero pero no causa cambios anatómicos en los fetos masculinos. Por otra parte la acumulación de deoxicorticosterona, con efecto mineralocorticoide, causa retención de sal y agua, la supresión de renina y aldosterona y secundariamente elevación de la presión arterial. Sin embargo, el cuadro hipertensivo puede aparecer en forma tardía varios años después del nacimiento y los recién nacidos pueden presentar paradójicamente un episodio de pérdida de sal. Esto probablemente se explica por algún grado de resistencia a mineralocorticoides que presentan ciertos recién nacidos y la baja potencia de la deoxicorticosterona como mineralocorticoide. El diagnóstico de esta afección se certifica al detectar niveles muy elevados de 11-deoxicortisol o de sus metabolitos. El diagnóstico prenatal puede ser realizado midiendo estos metabolitos en el líquido amniótico y confirmado eventualmente a través del estudio genético^{4, 27}.

La deficiencia de P450c11 β se debe a alteraciones en el gen que codifica para esta enzima, denominado CYP11B1. Una serie de mutaciones en el gen CYP11B1 han sido descritas, y la mayor parte de las veces estas destruyen la actividad del citocromo, determinando la aparición de las manifestaciones típicas de la enfermedad. La mutación más frecuente es la R448H y se ha descrito preferentemente en judíos marroquíes. Sin embargo, al menos una docena de otras mutaciones han sido descritas en otras poblaciones²⁷⁻³⁰. La mayor parte de

ellas están localizadas en regiones de importancia clave para el funcionamiento de la enzima, como son la región de unión con el grupo heme o la zona que determina la transferencia de protones o que afecta la unión con cofactores como la adrenodoxina.

El tratamiento de esta afección, al igual que en los casos de deficiencia de 21-OH, consiste en la administración de cortisol o dexametasona en dosis suficientes para reducir la hipersecreción de ACTH y con ello normalizar el cuadro. En muchas oportunidades es necesario adicionar terapia antihipertensiva.

DEFICIENCIA DE 17 α -HIDROXILASA

La deficiencia de 17-hidroxilasa es una forma rara de presentación de HSRC. La 17 α -hidroxilación es catalizada por el citocromo P450c17. Esta enzima hidroxila en posición 17 a la pregnenolona y a la progesterona, a la vez que actúa como liasa, rompiendo el enlace entre los carbonos 17 y 20 y con ello permitiendo la síntesis de andrógenos sexuales. En la actualidad se han comunicado más de 125 casos de deficiencia de 17 α -hidroxilasa y otros 14 de deficiencia aislada de 17,20 liasa⁴.

La deficiencia de 17 α -hidroxilasa es caracterizada por el bloqueo de la síntesis del cortisol a nivel suprarrenal con la consiguiente hipersecreción compensatoria de

ACTH y por la ausencia de esteroides sexuales a nivel gonadal. Los altos niveles de ACTH estimulan la síntesis de grandes cantidades de deoxicorticosterona, corticosterona y 18-hidroxycorticosterona a nivel de la glomerulosa suprarrenal. Estos esteroides, por su efecto mineralocorticoide, retienen sal y agua y secundariamente llevan a producir hipertensión arterial. Además, el aumento de las concentraciones de desoxicorticosterona y corticosterona en la zona fasciculata pueden suprimir la producción de aldosterona de la zona glomerulosa, al igual como ocurre en la deficiencia de 11 β -hidroxilasa. La ausencia de esteroides sexuales determina una falta de diferenciación sexual masculina, que puede manifestarse como pseudohermafroditismo y en la mujer por falta de caracteres sexuales secundarios asociados a amenorrea primaria. El cuadro de hipogonadismo se certifica al detectar niveles muy bajos de estrógenos y testosterona, asociados a una elevación de FSH y LH³¹.

La deficiencia de P450c17 es causada por defectos en el gen CYP17³²⁻³⁴. En la actualidad diferentes lesiones a nivel del gen CYP17 han sido detectadas, las cuales determinan la pérdida de actividad total o parcial del citocromo (figura 2). Las mutaciones frecuentemente comprometen el exon 8 del gen, región que podría ser responsable de la unión con el grupo heme^{35,36}. También se postula que alteraciones a nivel del carboxi-

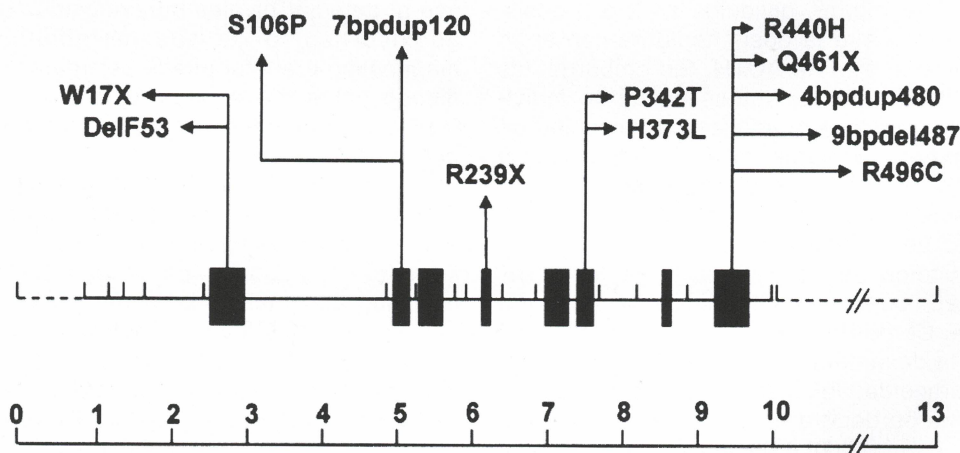


Figura 2: Espectro de mutaciones en el gen CYP17 detectadas en pacientes portadores de un déficit de 17 α -hidroxilasa.

Tabla 2

Frecuencia alélica de mutación en pacientes chilenos con déficit de 21 hidroxilasa y su comparación con otras poblaciones

	n de cromosomas	Delección (%)	12 splice (%)	R357W (%)	Q319X (%)	I173N (%)	Cluster E6 (%)	F308 instT (%)
Chile (20)	126	22,9	19,0	12,7	10,5	7,1	2,4	0,0
Argentina (24)	48	25,0	25,0	2,1	18,8	0,0	0,0	ND
USA (9)	254	30,3	46,1	4,3	5,1	2,8	ND	0,8
Italia (11, 12)	90	22,4	38,9	1,1	12,2	3,3	0,0	1,1
España (13)	40	27,5	32,5	5,0	5,0	0,0	0,0	2,5
Francia (14)	84	36,9	22,6	ND	4,8	8,3	4,8	1,2
Suiza (8)	186	35,3	41,3	3,8	3,8	17,4	1,1	0,5
Taiwán (16)	13	42,9	35,7	14,3	0,0	0,0	0,0	0,0
Japón (18)	70	ND	32,9	18,6	2,9	2,9	2,9	0,0

ND: no determinado. Número de referencia está entre paréntesis.

lo terminal pueden influenciar electrostáticamente la unión con residuos del cofactor microsomal P450 reductasa.

El tratamiento de esta afección se consigue, al igual que en las otras deficiencias, con la administración de dexametasona, pero en estos casos se deben adicionar esteroides sexuales para compensar el déficit secundario a la baja producción gonadal de estos.

DÉFICIT DE 3 β -HIDROXIESTEROIDE DESHIDROGENASA (3 β -HSD)

El déficit de 3 β -HSD es causa de HSRC al bloquear el paso de pregnenolona a progesterona, de 17-hidroxipregnenolona a 17-hidroxiprogesterona y de dehidroepiandrosterona a androstenediona. Esto determina un impedimento en la síntesis de cortisol, aldosterona y testosterona⁴.

La forma clásica del déficit se caracteriza por grados variables de pérdida de sal y genitales ambiguos en recién nacidos de sexo masculino. En mujeres, la diferenciación sexual es normal, pero pueden existir evidencias leves de virilización por conversión de pequeñas cantidades de dehidroepiandrosterona en testosterona. El déficit total de esta enzima es incompatible con la vida. El diagnóstico de esta afección se postula ante un cociente elevado entre 17-hidroxipregnenolona y 17-hidroxiprogesterona; sin

embargo, el estudio molecular de muchos estos pacientes no ha podido demostrar una alteración genética compatible con el diagnóstico.

La genética molecular de esta afección es compleja, dado que han sido identificadas 2 enzimas 3 β -HSD, las cuales son 93,5% idénticas¹. La tipo I es expresada en la placenta y en tejidos periféricos tales como piel y glándula mamaria, mientras que la tipo II es expresada en la glándula suprarrenal y gónadas. Al menos 14 lesiones en el gen de la 3 β -HSD tipo II han sido comunicadas, las cuales dan cuenta de la forma clásica de la deficiencia³⁹. Estas alteraciones generalmente corresponden a cambios de 1 aminoácido en la secuencia nucleotídica de la enzima, que es suficiente para determinar la pérdida de función. En las formas no clásicas, no se ha demostrado la existencia de mutaciones en el gen de la 3 β -HSD tipo I o II, postulándose que el criterio bioquímico no identifica con certeza el desorden enzimático.

OTRAS DEFICIENCIAS

Deficiencia de corticosterona metiloxidasa (CMO)

Este es un desorden referido a un grupo infrecuente de defectos que alteran la biosíntesis de mineralocorticoides y en particu-

lar de aldosterona^{40, 41}. El término es algo arcaico y deriva del tiempo en que no existía una clasificación molecular de estos defectos. Actualmente se sabe que existen 2 síndromes diferentes denominados como CMO-I y CMO-II, los cuales difieren en el lugar del bloqueo de la biosíntesis de aldosterona. En la deficiencia de CMO-I los sujetos afectados presentan pérdida de sal asociada a altas concentraciones séricas de corticosterona pero bajas de 18OH-corticosterona y aldosterona, indicando un bloqueo en la 18-hidroxilación suprarrenal. En la deficiencia de CMO-II el cuadro es similar, excepto por la elevación de la 18OH-corticosterona, indicando una normal 18-hidroxilación asociada a un defecto de 18-oxidación que impide la biosíntesis de aldosterona. La severidad del trastorno varía inversamente con la edad, siendo más severamente afectados los recién nacidos y lactantes, inversamente niños mayores o adultos pueden incluso presentarse con electrolitos plasmáticos normales. La diferenciación entre ambos cuadros se hace a través de la determinación de la relación corticosterona/18OH-corticosterona, la cual se encuentra elevada en la deficiencia de CMO-I y disminuida en la deficiencia de CMO-II. La deficiencia de CMO-I y II radica en alteraciones a nivel del gen CYP11B2 que codifica para el citocromo P450c11AS. Dos lesiones han sido descritas en el déficit de CMO-I, una de las cuales es una delección de 5 pares de bases y la otra una mutación R384P que determinan la pérdida de actividad de la enzima^{42, 43}. En la CMO tipo II se han identificado 2 diferentes mutaciones puntuales, la R181W y la V386A, las cuales deben darse juntas para determinar la pérdida de actividad del citocromo^{44, 45}. El tratamiento de ambas formas de deficiencia consiste en la administración de mineralocorticoides, generalmente fludrocortisona en dosis de 0,5 a 0,1 mg/día.

HIPERPLASIA ADRENAL LIPOIDEA

Esta es la forma más severa de hiperplasia suprarrenal congénita, dado que los individuos afectados no pueden sintetizar ninguna hormona esteroideal. Así, los sujetos afectados se presentan con un fenotipo femenino asociado a una severa pérdida de sal que es fatal de no ser tratada. La lesión molecular de este desorden radica en la pro-

teína denominada StAR (Steroidogenic Acute Regulatory Protein) encargada de promover el flujo de colesterol al interior de la mitocondria, donde es convertido a pregnenolona por el citocromo P450scc. En la actualidad se han detectado 3 mutaciones que afectan a la proteína StAR, que son la R193X, Q258X y una mutación que afecta el *splicing* a nivel del exon 5. El tratamiento de los sujetos afectados consiste en la reposición de todas las hormonas deficitarias, en particular aquellas que tienen que ver con el metabolismo hidrosalino⁴⁶.

REFERENCIAS

1. White PC, Speiser PW: Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocr Rev* 2000; 21: 245-91.
2. Morel Y, Millar WL: Clinical and molecular genetics of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Advances in human genetics*. New York: Plenum Press, 1991; 1-68.
3. Miller WL: Genetics, diagnosis and management of 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 241-7.
4. Fardella CE, Miller WL: Molecular biology of mineralocorticoid metabolism. *Ann Rev Nutr* 1996; 16: 443-70.
5. Rodríguez JA: Defectos enzimáticos de la corteza suprarrenal. En: *Endocrinología Clínica*. Ed Rodríguez JA. Editorial Mediterráneo. Santiago. 2000: 254-262.
6. Higashi Y, Yoshioka H, Yamane, et al: Complete sequence of two steroid 21-hydroxylase genes tandemly arranged in human chromosome: A pseudogene and a genuine gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 2841-5.
7. White PC, New MI, Dupont B: Congenital adrenal hyperplasia. *New Engl J Med* 1987; 316: 1580-6.
8. Wedell A, Thilén A, Ritzén M, Stengler B, Luthman H: Mutational spectrum of the steroid 21-hydroxylase gene in Sweden: Implications for genetic diagnosis and association with disease manifestation. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 1145-52.
9. Wilson R, Wei JQ, Cheng KC, Mercado M, New M: Rapid deoxyribonucleic acid analysis by allele-specific polymerase chain reaction for detection of mutations in the steroid 21-hydroxylase gene. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 1635-40.
10. Speiser PW, Dupont J, Zhu D, et al: Disease expression and molecular genotype in congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Invest* 1992; 90: 584-95.
11. Carrera P, Bordone L, Azzani T, et al: Point mutations in Italian patients with classic, non-classic, and cryptic forms of steroid 21-hydroxylase deficiency. *Hum Genet* 1996; 98: 662-5.
12. Carrera P, Ferrari M, Beccaro F, et al: Molecular characterization of 21-hydroxylase deficiency in 70 Italian families. *Hum Hered* 1993; 43: 190-6.
13. Ezquieta B, Oliver A, García R, Gancedo PG: Analysis of steroid 21-hydroxylase gene mutations in Spanish populations. *Hum Genet* 1995; 96: 198-204.

14. Barbat B, Bogyo A, Raux-Demay MC, et al: Screening of CYP21 gene mutations in 129 French patients affected by steroid 21-hydroxylase deficiency. *Hum Mutat* 1995; 5: 126-130.
15. Schulze E, Scharer G, Rogatzki A, et al: Divergence between genotype and phenotype in relatives of patients with the intron 2 mutation of steroid 21-hydroxylase. *Endocr Res* 1995; 21: 359-364.
16. Lee HH, Chao HT, Ng HT, Choo KB: Direct molecular diagnosis of CYP21 mutations in congenital adrenal hyperplasia. *J Med Genet* 1996; 33: 371-5.
17. Tajima T, Fujeda K, Nakayama K, Fujii-Kuriyama Y: Molecular analysis of patient and carrier genes with congenital steroid 21-hydroxylase deficiency by using polymerase chain reaction and single strand conformation polymorphism. *J Clin Invest* 1993; 92: 2182-90.
18. Higashi Y, Hiromasa T, Tanai A, et al: Effects of individual mutations in the P-450(c21) activity and their distribution in the patients genomes of congenital steroid 21-hydroxylase deficiency. *J Biochem* 1991; 109: 638-644.
19. Pineda P, Fardella C, Poggi, et al: Diagnóstico molecular de hiperplasia suprarrenal congénita por déficit de 21-hidroxilasa variedad perdedora de sal, en población chilena. *Rev Med Chile* 1977; 125: 987-992.
20. Fardella C, Poggi H, Pineda P, et al: A. salt-wasting congenital adrenal hyperplasia: Detection of mutations in CYP21B gene in a Chilean population. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 3357-60.
21. Fardella C, Poggi H, Soto J, et al: A. Mutations in the CYP21B gene in a Chilean population with simple virilizing congenital adrenal hyperplasia. *J Endocrinol Invest* 2000; 23: 412-6.
22. Cruz-Coke R, Moreno RS: Genetic epidemiology of single gene defects in Chile. *J Med Genet* 1994; 31:702-706.
23. Shurr TG, Ballinger SW, Gan YY, et al: Amerindian mitochondrial DNAs have a rare Asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages. *Am J Hum Genet* 1990; 46: 613-623.
24. Dardis A, Bergada I, Rivarola M, Belgorosky A: Mutations of the steroid 21-hydroxylase gene in an Argentinian population of 36 patients with classical congenital adrenal hyperplasia. *J Pediatr Endocrinol Metab* 1997; 10: 55-61.
25. Speiser PW, White PC, Dupont J, Zhu D, Mercado AB, New MI: Prenatal diagnosis of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency by allele-specific hybridization and southern blot. *Hum Genet* 1994; 93: 424-8.
26. Rosler A, leiberman E, Cohen T: High frequency of congenital adrenal hyperplasia (classic 11-beta-hydroxylase deficiency) among Jews from Morocco. *Am J Med Genet* 1992; 42: 827-834.
27. White PC, Curnow KM, Pascoe L: Disorders of steroid 11B-hydroxylase isosymes. *Endocrin Rev* 1994; 15: 421-8.
28. White PC, Dupont J, New MI, Lieberman E, Hochberg Z, Rosler A: A mutation in Cyp 11B1 (Arg 448→His) associated with steroid 11B-hydroxylase deficiency in Jews of Moroccan origin. *J Clin Invest* 1991; 87: 1664-7.
29. Curnow KM, Slutsker L, Vittek J, et al: Mutations in the CYP11B1 gene causing congenital adrenal hyperplasia and hypertension cluster in exons 6,7, and 8. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 4552-6.
30. Geley S, Kapelari K, Johrer K, et al: YP11B1 mutations causing congenital adrenal hyperplasia due to 11β-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 2896-2901.
31. Biglieri EG, Herron MA, Brust N: 17-Hydroxylation deficiency in man. *J Clin Invest* 1966; 45: 1946-54.
32. Picado-Leonard J, Miller WL: Cloning and sequence of the human gene encoding P450c17 (steroid 17α-hydroxylase/17,20 lyase): similarity to the gene for P450c21. *DNA* 1987; 6: 439-448.
33. Cheng B, Picado-Leonard J, Hanu M, et al: Cytochrome P450c17 (steroid 17α-hydroxylase/17,20 lyase): cloning of human adrenal and testis cDNAs indicates the same gene is expressed in both tissues. *Proc natl Acad Sci* 1987; 84: 407-411.
34. Yanase T, Simpson ER, Waterman MR: 17α-hydroxylase /17,20 lyase: from clinical investigation to molecular definition. *Endocr Rev* 1991; 12: 91-108.
35. Fardella CE, Zhang LH, Mahachoklertwattana P, Lin D, Millar WL: Deletion of aminoacids Asp487-Ser488-Phe489 in human cytochrome P450c17 causes severe 17α-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 489-493.
36. Fardella CE, Hum DW, Homoki J, Miller WL: Point mutation 440 to His in cytochrome P450c17 causes severe 17α-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 160-4.
37. Berube D, Luu-The V, Lachance Y, Gagne R, Labrie F: Assignment of the human 3β-hydroxysteroid dehydrogenase gene (HSDB3) to the p13 band of chromosome 1. *Cytogenet Cell Genet* 1989; 52: 199-200.
38. Lachance Y, Luu-The V, Verreault H, et al: Structure of the human type II 3β-hydroxysteroid dehydrogenase/D5-D4 isomerase (3β-HSD) gene: adrenal and gonadal specificity. *DNA Cell Biol* 1991; 10: 701-11.
39. Rheau E, Simard J, Morel Y, et al: Congenital adrenal hyperplasia due to point mutations in the type II 3β-hydroxysteroid dehydrogenase gene. *Nat Genet* 1992; 1: 239-245.
40. Ullick S, Wang JZ, Morton H: The biochemical phenotypes of two inborn errors in the biosynthesis of aldosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74: 1415-20.
41. Rosler A: The natural history of salt-wasting disorders of adrenal and renal origin. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 59: 689-700.
42. Mitsuuchi Y, Kawamoto T, Miyahara K, et al: Congenitally defective aldosterone biosynthesis in the humans: inactivation of the P-450c18 gene (CYP11B2) due to nucleotide deletion in CMO I deficient patients. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 190: 864-9.
43. Geley S, Johrer K, Peter M, et al: Amino acid substitution R384P in aldosterone synthase causes corticosterone methyl oxidase type I deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 424-9.
44. Pascoe L, Curnow K, Slutsker L, Rosler A, White PC: Mutations in the human CYP11B2 (aldosterone synthase) gene causing corticosterone methyl oxidase II deficiency. *Proc natl Acad Sci USA* 1992; 89: 4996-5000.
45. Zhang G, Rodríguez H, Fardella C, Harris DA, Miller WL: Mutation T318M in the CYP11B2 gene encoding P450c11AS (aldosterone synthase) causes corticosterone methyl oxidase II deficiency. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 1037-43.
46. Lin D, Sugawara T, Strauss JF III, et al: Role of steroidogenic acute regulatory protein in adrenal and gonadal steroidogenesis. *Science* 1995; 267: 1828-31.