

Hiperplasia suprarrenal congénita: diagnóstico y tratamiento prenatal

Congenital adrenal hyperplasia: diagnosis and prenatal treatment

Silvina G Fidalgo¹

¹ Hospital Churrucá-Visca, Servicio de Endocrinología, CABA, Argentina
Contacto de la autora: Silvina G. Fidalgo
E-mail: sgfidalgo@gmail.com
Correspondencia: Uspallata 3400 (C1437JCP), CABA, Argentina

Resumen

La hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) es una enfermedad autosómica recesiva que afecta a la enzima 21-hidroxilasa y que puede causar complicaciones neonatales con riesgo de vida. El diagnóstico temprano puede prevenir la virilización intraútero y evitar asignaciones erróneas de sexo, como así también extensas cirugías ginecológicas para mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Es importante un diagnóstico precoz de la enfermedad intraútero para evitar realizar tratamiento con glucocorticoides a fetos masculinos o femeninos no afectados. También es de vital importancia un estricto control materno y fetal durante el embarazo, como así también un seguimiento posterior del niño a largo plazo para evaluar todos los posibles efectos de los corticoides.

Palabras clave: hiperplasia suprarrenal congénita, diagnóstico prenatal.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2016; Vol. XXIII (18-29)

Abstract

Congenital adrenal hyperplasia (CAH) is an autosomal recessive disease affecting the 21-hydroxylase enzyme that can cause life-threatening neonatal complications. Early diagnosis can prevent intrauterine virilization and avoid mistaken gender determination as well as extensive gynecological surgeries to improve patient's quality of life. Early diagnosis of intrauterine disease is important to avoid treatment with glucocorticoids to either male or female non-affected fetus. Furthermore, it is of vital importance to have a strict maternal and fetus control during pregnancy as well as a subsequent long-term follow up of the child to evaluate all possible effects of the corticoids.

Key words: congenital adrenal hyperplasia, prenatal diagnosis.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2016; Vol. XXIII (18-29)

OBJETIVOS

Los objetivos de esta revisión son: evaluar a qué pacientes debemos estudiar para descartar hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) en el embarazo, cuáles son los métodos diagnósticos adecuados, a quiénes debemos tratar y con qué fármaco, así como también resaltar la importancia de un estricto monitoreo materno-fetal y de un seguimiento posterior del niño a largo plazo para evaluar posibles complicaciones del uso de corticoides intraútero.

INTRODUCCIÓN

La hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) fue descrita por primera vez a mediados del siglo XIX, pero un conocimiento más profundo de la misma se logró a mediados del siglo siguiente cuando se

conoció la naturaleza recesiva de esta enfermedad y se identificaron las anomalías hormonales secundarias a la misma.

La HSC conforma un grupo de enfermedades cuyo hallazgo común es un defecto enzimático en la vía esteroidogénica que conduce a la biosíntesis de cortisol. Esta disminución relativa en la producción de cortisol causa un aumento en la secreción de ACTH y subsecuente hiperplasia de la glándula suprarrenal. De acuerdo a la enzima deficitaria existen distintos tipos y la forma más frecuente la constituye el déficit de la enzima 21-hidroxilasa.

Debido al déficit en la función de esta enzima los pacientes no pueden sintetizar cortisol en forma eficiente, con lo que disminuye la retroalimentación negativa que éste ejerce sobre la secreción de

ACTH hipofisaria. El aumento resultante de ACTH estimula la corteza suprarrenal, que se hiperplasia y aumenta la producción de precursores de cortisol. Algunos de éstos son utilizados para la síntesis de hormonas sexuales, lo que puede ocasionar signos de hiperandrogenismo. En ocasiones, también hay déficit de mineralocorticoides.

La síntesis de glucocorticoides, mineralocorticoides y andrógenos puede verse afectada de forma global o ambas, lo que da lugar a las distintas formas clínicas cuyas manifestaciones pueden presentarse en el período neonatal, en la infancia, adolescencia y adultez, e incluye las formas "clásicas" que se subdividen en la forma perdedora de sal y virilizante simple y la forma "no clásica" o de inicio tardío.

Diagnóstico

1) Diagnóstico neonatal

a) Importancia e implicancias

El objetivo de los programas de *screening* es, en principio, la detección de las formas clínicas más severas, aunque algunos programas ya han comenzado a analizar pacientes portadores de formas no clásicas de la enfermedad.

b) Criterios de *screening*

Las enfermedades ideales para el *screening* (en masa) generalizado son aquellas que:

- a) Pueden ser tratables.
- b) No son tempranamente reconocidas por la clínica médica.
- c) Necesitan de una terapia temprana para evitar daños irreversibles.
- d) Tienen una frecuencia razonable y pueden ser detectadas por simples pruebas de laboratorio.

La HSC causada por el déficit de 21-hidroxilasa cumple con los criterios para *screening*, excepto por el hecho que la mayoría de las mujeres cursa sin período asintomático. Las pacientes con esta enfermedad pueden ser clínicamente diagnosticadas al nacimiento o al examen postnatal. Sin embargo, son aún beneficiosos la detección temprana y el *screening* del recién nacido para evitar errores diagnósticos y prevenir asignaciones erróneas del sexo².

2) Diagnóstico postnatal

Se realiza mediante el dosaje de 17-OH-progesterona en sangre. Algunos estudios realizados en el New York Hospital-Cornell Center proponen el dosaje en saliva, dado que mostraría una buena extra-

polación con el del suero³.

En algunos casos, cuando el valor es *borderline*, es útil realizar la prueba de ACTH para arribar al diagnóstico. Cuando los niveles de 17-OH-progesterona se encuentran entre 2-5 ng/dL, se inyecta una dosis de ACTH de 250 µg/m² de superficie corporal, con dosajes basales y 60 minutos (previa extracción de sangre para dosaje) de 17-OH-progesterona (y posterior extracción a los 60 minutos.) Un valor mayor a 10 ng/mL confirma el diagnóstico. Esto es de gran utilidad para las pacientes portadoras de formas heterocigotas⁴.

También es de utilidad el dosaje de los andrógenos suprarrenales en sangre y de pregnanetriol y 17-cetoesteroides en orina.

3) Diagnóstico prenatal

a) Indicaciones

La principal indicación del diagnóstico prenatal es proveer a los padres una información completa acerca del estatus genético del feto. Se le debe ofrecer a aquellas madres que han tenido un hijo con HSC con el mismo padre, en cuyo caso la posibilidad de tener una niña afectada es 1/8 en cada embarazo posterior⁵.

También se puede realizar cuando uno de los padres es portador de una forma heterocigota o cursa la enfermedad y se desconoce el estatus de portador del otro padre; es decir, investigar en los padres la presencia de heterocigosidad. Esto es de utilidad, ya que la posibilidad de tener una hija afectada es de 0,4%, 1/250 (teniendo en cuenta que la frecuencia de portadores de una forma clásica es del 1,6% en la población general). Si el padre o la madre provienen de una familia sin historia de deficiencia de 21-hidroxilasa, el primer paso es realizar en el paciente en estudio una prueba de ACTH con medición de 17-OH progesterona y 21-desoxicortisol basal y a los 30 y 60 minutos. Si el sujeto es heterocigota, se realizan estudios de biología molecular. De acuerdo con la lesión genética encontrada, se puede predecir si la mutación es de riesgo para la forma clásica o no clásica de HSC^{6,7}.

b) Opciones diagnósticas

Se puede realizar el diagnóstico prenatal mediante tres aproximaciones: hormonal, "enlaces de ADN" o por biología molecular.

En 1965, Jeffcoate et al. realizaron el primer diagnóstico prenatal mediante la medición de 17-cetoesteroides y pregnanetriol en líquido amniótico;

luego se comenzó a dosar también 17-OH-progesterona. Este método no es útil en el diagnóstico de la forma no clásica y algunos autores cuestionan su utilidad en la forma virilizante simple. Su principal desventaja radica en que el análisis se realiza a mediados del embarazo, hacia la semana 20 y el tratamiento debe efectuarse antes de la semana 10⁸⁻¹¹.

La técnica de tipificación de HLA de células de cultivo de líquido amniótico se realizó en la década de 1980. Ésta comenzó a usarse una vez que se demostró la estrecha relación genética entre el gen CYP21 y el HLA, y se realizaba en el segundo trimestre del embarazo. Sin embargo, en la actualidad su uso es muy limitado porque presenta varias desventajas, entre ellas:

a) Riesgo de recombinación entre los marcadores del gen de CYP21.

b) Fallas en la detección de mutaciones *de novo*.

c) Requerimiento absoluto de familias completas para estudiar los cromosomas, lo que dificulta el estudio cuando algunos de los integrantes de la familia no está disponible.

d) Falta de expresión de todos los tipos de HLA en las células fetales.

Estas desventajas se evitan con el diagnóstico basado en la detección directa de mutaciones de CYP21 en ADN mediante el uso de técnicas de biología molecular con muestra obtenida por biopsia de vellosidades coriónicas (CVS por sus siglas en inglés). Este método se realiza en forma sistemática entre las semanas 8 y 10, con un riesgo de entre el 0,6-0,8% para el feto y con el beneficio extra de información acerca del genotipo^{7,12,13}. Sin embargo, aún en los laboratorios más especializados toma al menos una semana confirmar el diagnóstico, por lo que el tratamiento se realiza al menos por seis semanas antes de confirmar o descartar el diagnóstico^{10,11,14}. Este método permite detectar el 98% de las mutaciones que causa HSC a través de una combinación de técnicas moleculares que estudian grandes rearrreglos génicos y *arrays* de mutaciones puntuales. Si no se puede acceder a este método, puede utilizarse la amniocentesis, con la desventaja que ésta no puede realizarse sino hasta la semana 12 a 13 de gestación. En tal circunstancia, se utiliza el sobrenadante para mediciones hormonales, que es útil sólo para fetos con formas perdedoras de sal. Las células obtenidas se cultivan para análisis de ADN⁸.

El estudio de ADN fetal en suero materno es la técnica menos invasiva para el diagnóstico prenatal. Se utiliza PCR cuantitativa para la presencia de gen

SRY en suero materno permitiendo diagnosticar el sexo fetal. El ADN fetal que circula en suero materno ofrece la posibilidad de realizar diagnóstico prenatal no invasivo. Este trabajo se efectuó en pacientes que se sometieron a técnicas de reproducción asistida. Se utilizó un método de PCR cuantitativa en tiempo real que evaluó la presencia de ADN fetal en suero materno al inicio del embarazo para estudiar la cinética de la aparición del gen SRY^{8,9,15,16}. El ADN fetal fue hallado en suero materno antes que la circulación fetal estuviera desarrollada, por lo tanto sugiere que al menos en parte es liberado por el trofoblasto; otra hipótesis plantea que la placenta puede ser otra fuente de ADN fetal, ya que la concentración aumenta a medida que avanza el embarazo. La primera señal del gen SRY se detectó a los 18 días post-inseminación en un embarazo gemelar y todos los embarazos de fetos masculinos fueron positivos a partir del día 37. No hubo falsos positivos.

La determinación del sexo fetal fue perfectamente concordante entre este método y su posterior confirmación por técnicas habituales.

Esta técnica evita la necesidad de realizar punción de vellosidades coriónicas y de exponer a glucocorticoides a pacientes embarazadas de fetos masculinos. Tiene una sensibilidad del 100% y una especificidad del 90% hacia la semana 8 y del 100% en la semana 10^{1,17,18}.

El ADN en suero materno fue primero descrito por Lo et al. Esto permitió la determinación del sexo fetal por detección de cromosoma Y en varones (test SRY). Fue usado primero para enfermedades ligadas al X. El test de SRY era validado al final del primer trimestre, entre las semanas 9 y 11. En el año 2002, el grupo francés de Guidollet et al. extendió la determinación para HSC para prevenir su uso en fetos masculinos y se realizó en la semana 6. En el trabajo realizado por dicho grupo, se recomienda realizarlo después de la semana 4,5 de gestación garantizando una sensibilidad del 96%¹⁶.

La secuenciación paralela masiva (MPS) de ADN fetal en células libres fetales de plasma materno ha abierto la posibilidad del diagnóstico de desórdenes monogénicos en útero.

El grupo de la Dra. New utilizó 3,6 mL de sangre materna obtenida a las 6 semanas de gestación para determinar la MPS de la región genómica que incluye al gen CYP21A2. Primero se mapeó un único polimorfismo de nucleótidos (SNP) vinculado a este gen en los padres y el probando, y luego se buscó para representar el mapa del respectivo ha-

plotipo en el plasma de las madres embarazadas. Esto permitió determinar la herencia materna y paterna de los fetos en el locus CYP21A2¹⁹.

Se estudiaron 14 familias con los siguientes requisitos:

a) Tener hermanos afectados con HSC clásica (probando).

b) Que ambos padres presentaran al menos una mutación del gen CYP21A.

c) Disponibilidad de obtener suero de ambos padres y el probando.

Este estudio es la primera demostración de diagnóstico prenatal no invasivo en un grupo significativamente estadístico de embarazadas con desórdenes monogénicos de transmisión recesiva. Debido a la alta homología entre el gen y el pseudogen CYP21 y el hecho que de varias de las mutaciones son conversiones génicas que transfieren su mutación del pseudogen, no es posible la detección de la mutación directa por dicho método. Sin embargo sí puede hacerse una detección del SNPS vinculado al gen activo del CYP21A¹⁹.

Los diagnósticos genéticos preimplantación identifican anomalías genéticas en embriones preimplantación antes de su transferencia, permitiendo que sólo se transfieran aquellos no afectados. El procedimiento ha sido utilizado en muchos desórdenes monogénicos recesivos como fibrosis quística, entre otros. Hasta la actualidad hay un solo reporte para HSC, por lo cual se requieren más estudios⁸.

Tratamiento

1) Tratamiento postnatal

En todos los casos debe instituirse tratamiento con glucocorticoides. El objetivo es disminuir el exceso de producción de andrógenos adrenales mediante la restauración del *feedback* negativo respecto a ACTH (supresión)²⁰.

En general, en los niños se prefiere el uso de hidrocortisona vía oral y la dosis es de 10-20 mg/m²/día dividido en dos o tres tomas. Se utiliza esta dosis debido a la inactivación parcial por la acidez gástrica. En los adultos puede rotarse por dexametasona 0,25-0,5 mg/d. La dosis adecuada varía con cada paciente y debe controlarse por la clínica, la velocidad de crecimiento, la edad ósea y el laboratorio.

En la forma perdedora de sal debe instaurarse de inmediato un adecuado aporte hidroelectrolítico con dextrosa y solución fisiológica y tratamiento con glucocorticoides (20 mg de succinato de corti-

sol en infusión endovenosa constante por 24 horas) y mineralocorticoides (0,1-0,2 mg/día de fludrocortisona endovenosa). Una vez estabilizada la paciente, se rota la medicación a vía oral: hidrocortisona 12-15 mg/m²/día dividida en dos o tres tomas y fludrocortisona 20-200 µg/d endovenosa)^{21,22}.

En las formas clásicas no siempre es suficiente el uso de glucocorticoides, siendo necesario el tratamiento con mineralocorticoides cuando hay un aumento de la actividad de la renina plasmática (ARP)²¹.

Algunos autores han planteado, en aquellos casos donde no se ha logrado una buena respuesta al tratamiento, el uso de testolactona y flutamida sumado al tratamiento habitual para lograr de esta manera una mejor inhibición de la ACTH. Esto ha sido evaluado por el National Institute of Health^{5,22,23}.

Otros investigadores plantean la adrenalectomía para evitar de esta manera la necesidad de usar altas dosis de glucocorticoides. Quienes se inclinan por esta opción proponen realizar esta cirugía junto con la ginecológica a partir del sexto mes de vida^{5,12,22}.

2) Tratamiento prenatal

En 1972, Arai demostró la supresibilidad de la glándula suprarrenal fetal por la administración de glucocorticoides a la madre. Más tarde, en 1984, David y Forest propusieron el primer esquema terapéutico con dexametasona²⁴. Posteriormente, en unos pocos estudios que abarcaron algunos cientos de casos, se comunicó que la dexametasona prenatal disminuía la ambigüedad genital y la necesidad de cirugía correctiva²⁵⁻²⁷.

En el primer intento de tratamiento prenatal la madre recibió hidrocortisona. La niña quien presentaba una forma clásica de HSC nació con clítoromegalia y no requirió cirugía. Esta situación se interpretó como un éxito incompleto dado que los niveles de 17-OH-progesterona continuaban elevados hacia mitad de la gestación¹⁰.

El tratamiento prenatal comenzó a realizarse en varios centros pediátricos: Dör y Spinell en 1993, Mercado et al. en 1995 y Lajic et al. en 1997¹⁰.

Objetivo

1) Tratamiento del feto a través de la madre, administrándole dosis apropiadas de glucocorticoides para suprimir el eje hipotálamo-hipofisario-suprarrenal fetal. El principio de esto es que los glucocorticoides exógenos en la circulación materna atraviesan la placenta tanto en la etapa temprana como tardía de la gestación¹⁰.

2) Evitar la masculinización de fetos femeninos que cursan con formas clásicas, por lo que debe iniciarse antes de la sexta y octava semana (período en que se lleva a cabo la diferenciación genital). Lo ideal es iniciar el tratamiento apenas se confirme el embarazo. Esto fue demostrado por la diferencia en el *score* de Prader en pacientes tratadas versus pacientes no tratadas^{8,28}.

3) Evitar la exposición del cerebro de fetos femeninos a los andrógenos. Se ha observado que existen diferencias en el comportamiento social en estas pacientes y esto se relacionaría con los altos niveles de andrógenos presentes en las etapas tempranas del desarrollo cerebral y a la sensibilidad del cerebro a los efectos hormonales, ya que en los humanos el período prenatal es considerado crucial para la diferenciación sexual del cerebro y el comportamiento. Se demostró que las niñas con las formas más severas de la enfermedad presentaban modalidades de juegos y comportamientos más masculinos^{14,29}. También se observó que este tipo de comportamiento estaba relacionado con la extensión de la exposición de andrógenos prenatales en una forma dosis dependiente. Además pudo determinarse que el genotipo es un buen reflejo del exceso de andrógenos: las chicas con mutaciones nulas realizaban juegos más agresivos y masculinos que las que eran portadoras del *splice* I2, y a su vez éstas tenían un comportamiento más masculino respecto de aquellas que presentaban mutaciones en I172 o V218L. Por último, se observó que muchas de las modalidades en su comportamiento resultaban de la respuesta social a los genitales virilizados más que a un exceso de andrógenos^{18,22,30}.

Fundamentos

El cortisol materno y la prednisona no suprimen a la glándula suprarrenal porque son inactivados en su mayoría por la 11- β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 2 y la tipo 1 hepática, lo cual favorece que la actividad de estos esteroides en el feto sea baja. Por otra parte (aunque no está del todo aclarado), si se administra a la madre un glucocorticoide potente como la dexametasona que no es metabolizado por la enzima antes mencionada, puede producirse la inhibición del eje suprarrenal fetal y aminorar la masculinización de un feto femenino^{9,24,31,32}.

Dado que la glándula suprarrenal del feto es normal en los fetos anencefálicos con ACTH no mensurable, se sugiere que en el primer trimestre del embarazo la regulación de la glándula suprarre-

nal fetal es independiente de ACTH. Es posible que las altas concentraciones de dexametasona actúen de manera directa sobre la glándula suprarrenal fetal, pero esto aún no ha sido estudiado y no existen datos que describan la farmacología de la dexametasona en el primer trimestre del embarazo³³.

El tratamiento con dexametasona se administra bajo la presunción de que el eje suprarrenal es funcional en el feto y que los glucocorticoides exógenos prevendrían la hiperactividad causada por la falta de producción de glucocorticoides endógenos^{9,20,33}. El tratamiento debe iniciarse de preferencia antes de la semana 7, teniendo en cuenta que la diferenciación sexual externa ocurre entre las semanas 8 y 12 de gestación para evitar la virilización en fetos femeninos.

Se prefiere el uso de la dexametasona porque:

- a) No se une a la transcortina.
- b) Presenta un pasaje placentario más eficiente.
- c) Tiene vida media más prolongada.
- d) Tiene un mayor efecto supresor sobre la ACTH^{7,10,24}.

Desarrollo

En épocas pasadas las embarazadas recibían 0,5 mg de dexametasona cada 12 h (Forest, 1987). Luego, la dosis se incrementó a 0,5 mg cada 8 h. De acuerdo con el análisis de los primeros diez años de experiencia en Francia, la dosis diaria debe ajustarse a la superficie materna y administrarse en dos a tres tomas^{10,16}.

La dosis de 20 μ g/día/kg de peso corporal se propuso a partir de los análisis del líquido amniótico a mediados del embarazo, con normalización de los niveles de 17-OH-progesterona. Se administra una dosis máxima de 1,5 mg/día dividida en tres tomas^{7,34}.

El tratamiento debe iniciarse, de ser posible, antes de la sexta semana y debe continuarse hasta aproximadamente la semana 12, cuando se realiza una biopsia de las vellosidades coriónicas o análisis de ADN para determinar la presencia de la mutación del gen CYP21. En los últimos años, se ha propuesto la determinación del sexo hacia la semana 5, mediante muestra de sangre de la madre para detección del cromosoma Y por PCR²⁰, lamentablemente no disponible en muchos centros. Si no es posible realizar la biopsia de las vellosidades coriónicas, se continúa el tratamiento hasta la semana 15 a 18, momento en que se efectúa una amniocentesis con el respectivo análisis de ADN. A partir de allí solo se continúa el tratamiento en fetos feme-

niños homocigotas afectados^{16,24,35} (Figura 1), que se interrumpe cuando el diagnóstico indique feto masculino o no afectado¹¹. Algunos autores prefieren interrumpir el tratamiento cinco días antes de la amniocentesis para incrementar la eficacia y garantía del diagnóstico prenatal. Sin embargo, esto ha sido una causa de fallas del tratamiento^{7,10}.

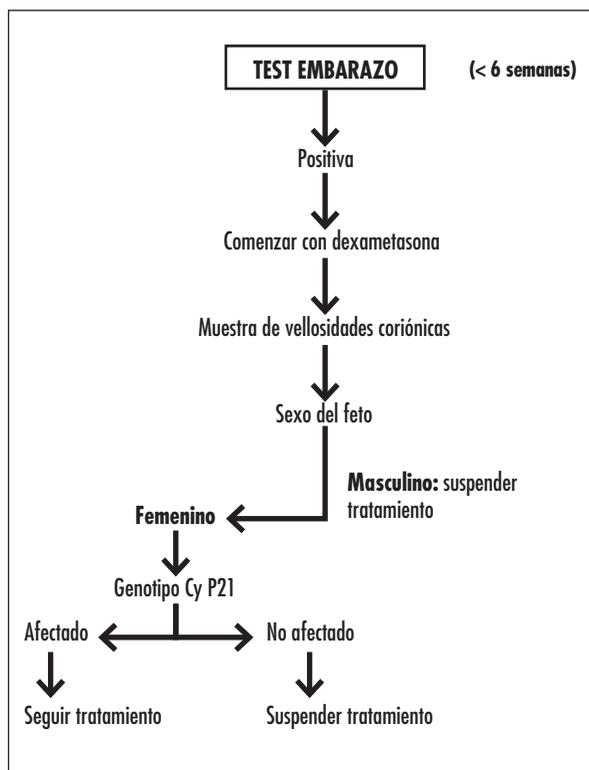


Figura 1: Algoritmo para el diagnóstico y tratamiento prenatal, cuándo iniciarlo y cuándo decidir su continuidad³⁵.

Monitoreo

Los niveles de 17-OH-progesterona y androsteronidona en el líquido amniótico son buenos indicadores de la supresión suprarrenal fetal. Sin embargo, los niveles de esteroides en el líquido amniótico también se hallan elevados en algunas mujeres embarazadas con fetos afectados de HSC a pesar del tratamiento. Esta aparente variabilidad en el grado de supresión suprarrenal puede ser consecuencia de la suma de dexametasona transferida desde la madre y/o al metabolismo placentario del fármaco y/o factores desconocidos⁷.

Se ha demostrado que las mujeres tratadas con dexametasona presentan disminución de los niveles de 17-hidroxipregnenolona, cortisol y DHEA. Los niveles plasmáticos de 17-OH-progesterona son de poco valor, sobre todo en el primer trimestre, ya que son poco influidos por el tratamiento.

Resulta más útil el seguimiento con testosterona libre que no se modifica de manera significativa durante el embarazo^{7,14,16}.

En la segunda mitad del embarazo, la falta de aumento en los niveles de estriol materno es un buen indicador tanto de la *compliance* materna como de la supresión del eje fetal. Las mediciones de estriol son útiles para monitorear el tratamiento hasta el término del embarazo cuando el diagnóstico prenatal ha indicado un feto femenino afectado de HSC, pero tiene poco valor en el primer trimestre^{7,10,16}.

Algunos autores han propuesto el seguimiento ecográfico del desarrollo genital fetal como una herramienta adicional para evaluar el éxito del tratamiento⁷.

Eficacia

Estudios en animales y su correlación con resultados en seres humanos

Los ratones con deficiencia de la enzima 21-hidroxilasa presentan hiperplasia de la glándula suprarrenal con aumento de los niveles de progesterona en comparación con el grupo control. También presentan una gran alteración en el eje hipotálamo-hipófiso-adrenal fetal que no puede prevenirse con el tratamiento prenatal con dexametasona. En ratones con deficiencia de 21-hidroxilasa, el incremento en los niveles del ARNm de hormona liberadora de corticotropina o corticoliberina (CRH) en el núcleo paraventricular (NPV) muestra que hay una sobreproducción y, probablemente, un aumento en la liberación del péptido a la circulación portal hipofisaria.

Se observó que el tratamiento con altas dosis de dexametasona suprime los niveles de ARNm de CRH en el NPV sin alterar los niveles de ARNm de vasopresina en el núcleo, y produce una leve disminución en los niveles de ARNm de POMC a nivel hipofisario³³.

En estos estudios no pudo lograrse una adecuada inhibición de los niveles de 17-OH-progesterona con el tratamiento, lo cual se debería a anomalías adrenales. Las altas concentraciones de proopiomelanocortina (POMC) indican una relativa insensibilidad al *feedback* glucocorticoideo en el ratón y no meramente un pobre pasaje placentario de los esteroides. Estos resultados sugieren una disociación funcional entre el hipotálamo y la hipófisis y se sospecha que se debe a que la producción de ACTH en estos desórdenes no se debe sólo a una hiperactividad hipotalámica. Sobre la base de estos datos, se puede interpretar que el tratamiento prenatal con glucocorticoides puede

no ser suficiente para suprimir el eje hipotálamo-hipófiso-adrenal fetal, ya que los niveles de 17-OH-progesterona en sangre persisten elevados a pesar de una disminución de la virilización³³.

No obstante estos resultados inciertos sobre la eficacia del tratamiento, ya desde la experiencia piloto de Forest en 1984, éste ha demostrado su efectividad en varias investigaciones de Forest en 1993 y Mercado en 1995¹⁰.

Reacciones adversas

1) Maternas

El tratamiento suele ser bien tolerado por la madre, a pesar que la incidencia de complicaciones varía de acuerdo a los diferentes autores. La prevalencia de complicaciones serias oscila entre el 2 al 18% en un estudio francés (no pudiendo ser completamente atribuidas al uso de dexametasona)^{9,34} hasta el 100% sobre tres pacientes publicado por Pang en 1992³⁶. Son más frecuentes en las mujeres que reciben tratamiento durante todo el embarazo.

Entre las reacciones adversas se describen:

- a) Ganancia de peso.
- b) Malestar gástrico.
- c) Edemas.
- d) Cambios en el humor.
- e) Hipertensión (HTA) leve.
- f) Síndrome de Cushing³⁶⁻³⁸.

Éstas suelen revertir con la suspensión del tratamiento. El peso, la tensión arterial y la tolerancia a la glucosa deben ser cuidadosamente monitoreados durante el tratamiento. La medición de estriol urinario materno se utiliza como guía para el ajuste de la medicación. Una disminución gradual en la dosis de dexametasona en las etapas tardías del embarazo podría disminuir la incidencia de efectos adversos en la madre, pero no hay datos concernientes a la eficacia de dicho régimen^{10,31,35}.

Se observaron complicaciones serias como síndrome de Cushing o HTA severa en el 1% de las mujeres tratadas, también en las primeras 12 semanas^{40,41}.

En Francia, la aceptación del tratamiento por parte de las madres fue considerada buena a excelente⁴². Los efectos adversos se presentaron en el 18% de las mujeres y fueron graves en el 2% de los casos.

Debido a lo antedicho, no se aconseja el uso de corticoides en mujeres con antecedentes de hiperglucemia, hipertensión arterial o cualquier otra alteración que pueda empeorar con el uso de glucocorticoides⁷.

Las madres tratadas no tuvieron mayor incidencia de aborto respecto del grupo control ni mayor

incidencia de nacidos de pretérmino^{28,42}. Sin embargo algunos autores informaron una mayor incidencia respecto de la población general, alrededor del 30% versus 12-15%⁴³.

En 2002 se publicaron las conclusiones del encuentro de la Sociedad Europea de Endocrinología Pediátrica y de la Sociedad de Endocrinología Pediátrica Lawson Wilkins⁴⁴. En ellas, se recomienda que el tratamiento prenatal se lleve a cabo como ensayo clínico previa aprobación de un Comité de Bioética. Las madres deben ser adecuadamente informadas sobre los potenciales efectos adversos tanto para ellas como para los fetos y la posibilidad de una mala respuesta al tratamiento, y es imperiosa la obtención previa del consentimiento informado³⁵. Cabe informar que el PREDEX, estudio que se realiza cumpliendo de manera plena las normas de ética de la buena investigación clínica, está incluyendo voluntarias muy lentamente por lo que se estima que las conclusiones tardarán todavía en alcanzarse⁴⁵.

En su guía del año 2010, la Sociedad Europea de Endocrinología sugiere que el tratamiento prenatal no sea considerado estándar sino en fase de experimentación¹⁹.

2) Reacciones adversas fetales

Estudios en animales

Experimentos llevados a cabo en animales de laboratorio despiertan fuertes dudas respecto de la seguridad del tratamiento prenatal con corticoides. Datos experimentales de animales expuestos han demostrado efectos adversos en el desarrollo somático y también en el comportamiento.

Algunos investigadores observaron que la administración endovenosa de glucocorticoides causa efectos graves sobre la arquitectura neuronal y el crecimiento fetales. En monas rhesus preñadas, dosis elevadas de dexametasona inducen degeneración y depleción del hipocampo piramidal y neuronas dentadas granulares. También en estas especies se detectó un aumento en los niveles de cortisol y disminución en el volumen del hipocampo. En otros estudios con monos africanos se observó HTA, alteración de la glucosa e hiperinsulinemia⁴¹. Sin embargo, las dosis utilizadas en estos estudios son mucho más altas que las utilizadas en seres humanos^{42,46,47}.

Otro estudio en ratas comprobó gran morbilidad en la descendencia, disminución del tamaño del hipocampo y de la memoria a corto plazo, aumento de la presión arterial, intolerancia a la glucosa, formación de quistes renales y disminución del

número de glomérulos^{15,31,48}. La sobreexpresión a corticoides en el período prenatal puede aumentar el riesgo de enfermedad cardiovascular posterior por un proceso denominado “programación prenatal”. En estos animales, el tratamiento con dexametasona prenatal redujo 14% el peso al nacer, con un aumento de la incidencia de hipertensión arterial en la edad adulta^{31,49}. También se observó hipertensión arterial por disminución del número de nefronas, ansiedad, alteración en el aprendizaje y la memoria^{45,47}. Sin embargo, hay que tener presente varios aspectos: casi todos estos estudios se basan en tratamientos relacionados con síndrome de dificultad respiratoria neonatal en el cual se usan dosis más altas de corticoides y en etapas más tardías. También es importante tener en cuenta que los roedores y los primates difieren en cuanto a la distribución de los receptores de glucocorticoides en el cerebro y a la corticosensibilidad. Se requieren estudios de seguimiento a largo plazo en niños para determinar si el tratamiento prenatal con dexametasona puede tener un efecto similar a las ratas en los seres humanos²⁴.

Estudios en seres humanos

La seguridad del tratamiento prenatal está en estudio y en debate, ya que no se sabe si puede interferir con el desarrollo fetal normal o causar efectos secundarios a largo plazo, aunque en general no se han reportado malformaciones congénitas ni muertes fetales atribuibles a la terapia^{16,37,45}.

La producción fetal de cortisol es menor en niños que en adultos, con concentraciones en sangre venosa de cordón umbilical a las 20 semanas de 0,72µg/dL³⁵. Por lo tanto, la administración de un corticoide potente como la dexametasona puede interferir con la fisiología fetal.

Teratogenia. El tratamiento no tendría efectos teratogénicos en humanos.

Crecimiento fetal. Si bien se sabe que el exceso de glucocorticoides puede alterar el crecimiento durante la niñez, esto no fue observado intraútero. En estudios realizados entre 1997-1998 en Suiza por Lajic, no hubo diferencias en peso y talla y circunferencia craneana en comparación con el grupo control^{24,38,39,42,50}. Tampoco se observaron efectos negativos en el crecimiento fetal ni diferencias significativas luego del nacimiento, a los tres meses, al año y a los cuatro años³⁴. Algunos autores han informado restricción del crecimiento intrauterino con posterior recuperación⁵¹. Sólo se evidenció res-

tricción del crecimiento intrauterino y muerte no explicada en el 2% de los casos²¹. En un estudio publicado por New et al. sobre una serie de más de 600 embarazadas tratadas tampoco hubo diferencias significativas^{8,9}.

Alteraciones cerebrales. En algunos fetos se observaron reacciones adversas como hidrocefalia y agenesia del cuerpo calloso, aunque no pudo corroborarse una relación directa o causal^{39,42}.

Alteraciones genitales. En algunos estudios se evidenciaron hipospadias y criptorquidia³⁹.

Respuesta inmunitaria. Se ha observado un aumento en la incidencia de infecciones neonatales, pero no se encontraron hasta el momento alteraciones en la respuesta inmune celular ni humoral¹⁴.

Alteraciones cardiológicas. Se observó hipertrofia septal cardíaca³⁵.

Supresión suprarrenal. No se observaron signos de supresión adrenal postnatal en los lactantes que habían recibido tratamiento prenatal cualquiera fuera su duración, excepto por un estudio en el cual la evidencia de supresión adrenal se observó en algunos recién nacidos que habían recibido tratamiento prenatal hasta los 3 a 9 días de vida⁷.

Conductas sociales. Trautman et al. hallaron una tendencia hacia el abandono y timidez, comportamientos poco sociales respecto del grupo control, aunque no se notaron cambios cognitivos⁴². Los niños tratados con dexametasona en la primera mitad del embarazo pueden presentar labilidad emocional, deficiente sociabilización y problemas conductuales²⁴; sin embargo, dichos hallazgos no fueron encontrados por Hiriviloski et al. en un estudio realizado en Suiza en el cual, por el contrario, observaron que los pacientes tratados con dexametasona presentaban un comportamiento más sociable que el grupo control¹⁴⁷.

En el año 2004 se realizó un estudio⁵² con el objetivo de investigar el desarrollo motor y cognitivo de niños cuyas madres fueron tratadas con dexametasona durante el embarazo. Las edades de dichos niños oscilaban entre 1 mes y 12 años. Se enviaron cuatro tipos de cuestionarios ya estandarizados a las madres de 174 niños que habían recibido tratamiento y hubo 313 controles; no se encontraron diferencias significativas en ambos grupos, concluyendo que, con los métodos usados, no se hallaron efectos adversos en el desarrollo motor y cognitivo. Hirvikoski et al. habían reportado déficits en la memoria verbal, sin diferencias en la inteligencia psicométrica, lateralización cerebral o

memoria a largo plazo. Este estudio enfatiza la necesidad de grandes ensayos multicéntricos^{9,49}.

En el año 2003 se publicaron los resultados de un estudio retrospectivo multicéntrico coordinado por investigadores franceses que abarcó casos de Francia, Alemania, los países escandinavos, Polonia y otros países europeos. Se obtuvo información sobre los embarazos tratados con dexametasona a través de formularios enviados a los pediatras europeos³⁴. De 253 embarazadas tratadas que tenían un hijo afectado previamente, el 30% de los fetos presentaba HSC. Del total, 189 mujeres interrumpieron el tratamiento al comprobarse por diagnóstico prenatal que se trataba de un varón o de un feto femenino no afectado. En dos pacientes, el análisis de HLA dio un falso negativo y en otro hubo que interrumpir el tratamiento por efectos adversos en la madre. Las restantes 64 embarazadas recibieron tratamiento hasta el término de la gesta.

El número de abortos fue menor respecto de embarazos previos no tratados en el mismo grupo. El 71% de los casos obtuvo resultados satisfactorios, y las niñas no requirieron genitoplastia. El 29% obtuvo malos resultados atribuidos a demora en el comienzo del tratamiento, dosis insuficientes o únicas con dexametasona, e interrupción temprana o falta de adherencia al tratamiento. En tres pacientes no se pudo hallar la causa. Puede suponerse que la corteza suprarrenal fetal no recibió una supresión adecuada con las dosis de dexametasona administradas³⁵. Sorprendentemente hubo más efectos adversos entre los fetos que recibieron tratamiento solo durante las primeras semanas del embarazo. Ninguna de estas muertes fue atribuida al tratamiento con dexametasona. En el grupo que recibió tratamiento durante todo el embarazo, sólo una niña presentó restricción del crecimiento intrauterino. El desarrollo postnatal fue considerado normal.

Se necesita el seguimiento de un mayor número de pacientes para llegar a una conclusión sobre la seguridad del tratamiento. Por esta razón, se están desarrollando estudios retrospectivos y prospectivos en numerosos países de Europa y en Estados Unidos⁵³. El PREDEX es un estudio longitudinal, multicéntrico y controlado, que evalúa la eficacia y seguridad en madres e hijos luego del tratamiento prenatal con dexametasona. Se inició en Estocolmo en el año 1999 y seguirá a los hijos hasta los 18 años. Vale destacar que en Suecia sólo se ofrece medicación a mujeres incluidas dentro de este estudio⁴⁵.

Parece claro que la dexametasona puede reducir la virilización del feto femenino afectado por déficit de 21-hidroxilasa; sin embargo los efectos a largo plazo en el desarrollo físico y neuropsicológico de los niños no es del todo claro. Desafortunadamente no hay tratamientos alternativos para evitar la virilización fetal. Esto hace que aún no se pueda determinar si las posibles consecuencias neuropsicológicas o físicas del tratamiento pueden tener mayor o menor significancia sobre el impacto psicológico que la ambigüedad sexual, siendo necesarios más estudios que incluyan comparaciones con grupos control.

La guía práctica de la Endocrine Society consideró no recomendar como estándar al tratamiento con dexametasona de manera prenatal sin estudios adicionales. Datos controversiales han llevado a sugerir suspender dicho tratamiento en algunos países europeos, incluida Suiza¹⁶.

En Francia, sobre la base de la eficacia observada en dicho tratamiento en los últimos 30 años, se decidió continuar con éste siempre previa firma de consentimiento informado y con un cuidadoso seguimiento materno y fetal¹⁶. Este grupo francés inició, en 2014, un estudio multicéntrico y multidisciplinario para evaluar el desarrollo cognitivo de los chicos con HSC congénita tratados intraútero en comparación con los no tratados; los resultados aún están pendientes¹⁶.

Resultados del tratamiento

Prevención de la virilización

En septiembre de 2010, los Centros de Regulación Federal de Estados Unidos concluyeron que los estudios referentes al tratamiento prenatal fueron realizados dentro de los marcos éticos regulatorios y que dicho tratamiento con dexametasona es útil para la prevención de la ambigüedad genital y demás signos de virilización^{22,54}.

Una ventaja potencial del tratamiento prenatal es cambiar la historia natural de las formas severas, dado que en los bebés tratados en el período prenatal, el control terapéutico es más fácil y requieren menos dosis de glucocorticoides.

CONCLUSIONES

La HSC puede causar complicaciones neonatales con riesgo para la vida. El diagnóstico temprano y el tratamiento intraútero pueden prevenir la virilización intraútero y evitar asignaciones erróneas del sexo, así como también extensas cirugías ginecológicas.

gicas, lo que permite mejorar la calidad de vida de estas pacientes.

La circunstancia más común en la cual se ofrece tratamiento prenatal a una mujer embarazada es cuando ella o el cónyuge ya han tenido un hijo con HSC, en cuyo caso la posibilidad de tener una niña afectada es de 1/8 con cada embarazo sucesivo. Otra consideración es que si uno de los padres presenta una forma clásica de HSC y se desconoce el estatus de portador del otro padre, la posibilidad de estos padres de tener un niño afectado es del 0,4% ó 1/250 (teniendo en cuenta que la frecuencia de portadores de una forma clásica es del 1,6% para la población general).

Se debe considerar también que los hijos de madres portadoras de la forma no clásica tienen mayor riesgo de desarrollar la forma clásica de HSC. Parece que al menos el 50% de las mujeres que presenta la forma no clásica posee componentes heterocigotas para mutaciones clásicas y no clásicas. Según esta premisa, existe *a priori*, una posibilidad del 0,1% (1/1 000) aproximadamente de que una madre con la forma no clásica tenga un hijo afectado con la forma clásica si el padre es heterocigota para la forma clásica.

Sobre la base de todo lo investigado, antes de alcanzar un protocolo para el tratamiento prenatal de HSC, debería informarse a la familia sobre:

a) Falta de garantía para el feto y el niño a largo plazo.

b) Con el tratamiento sólo se verá beneficiado uno de cada ocho fetos tratados.

c) Potenciales efectos sobre el feto y el niño que ha recibido tratamiento.

Sería de utilidad también realizar:

1) Monitoreo continuo fetal al tiempo de finalizado el tratamiento en los fetos no afectados.

2) Seguimiento a largo plazo de los pacientes que recibieron tratamiento prenatal (adrenarca, pubertad, tensión arterial, hiperandrogenismo, etc.).

3) Información y registro de toda la experiencia nacional e internacional.

Luego del *meeting* de la Sociedad Europea de Endocrinología Pediátrica y de la Sociedad de Endocrinología Lawson Wilkins en junio de 1993 se concluyó que:

a) El diagnóstico prenatal es altamente confiable si se usan técnicas de biología molecular en laboratorios especializados.

b) El tratamiento prenatal es efectivo para aminorar de manera sustancial las malformaciones en

los genitales externos de fetos femeninos. Los resultados son mejores cuando se inicia el tratamiento en etapas tempranas del embarazo, preferentemente en la cuarta semana de gestación.

c) Tener en cuenta que, a pesar del inicio temprano del tratamiento con dexametasona, dos tercios de las niñas deberán ser expuestas a cirugías correctoras.

d) Existe un consenso clínico general sobre la dosis de dexametasona de 20 µg/kg/día.

Puede usarse, de manera conjunta, un mineralocorticoide para escapar a la inactivación por la placenta de la 11β-hidroxiesteroide deshidrogenasa.

En el año 2002, estas sociedades se reunieron nuevamente y recomendaron que el tratamiento prenatal se lleve a cabo como ensayo clínico previa aprobación de un Comité de Bioética. Las madres deber ser adecuadamente informadas sobre los potenciales efectos adversos tanto para ellas como para los fetos y la posibilidad de una mala respuesta al tratamiento, siendo imperiosa la obtención previa del consentimiento informado. Lo mismo fue ratificado en el último encuentro en 2014.

Es importante recalcar que faltan más estudios con alto número de pacientes que avalen los beneficios de este tipo de tratamiento, el cual hasta el momento pareciera tener una eficacia elevada. Es también importante recordar que este tratamiento no es inocuo para la madre, que sólo se beneficiará uno de cada ocho recién nacidos y que hacen falta más investigaciones y seguimientos a largo plazo para poner de manifiesto la verdadera inocuidad para el niño o niña tratado intraútero. Por lo tanto, es fundamental disponer de protocolos serios de tratamiento y del total acuerdo de la madre y de un equipo médico para el inicio del mismo.

REFERENCIAS

1. Avent ND, Chitty LS. Non-invasive diagnosis of fetal sex; utilization of free fetal AND in maternal plasma and ultrasound. *Prenat Diagn.* 2006; 26(7):598-603.
2. Thomason M, Lord J, et al. A systematic review of evidence for the appropriateness of neonatal screening programmes for inborn errors of metabolism. *Journal of Public Health of Medicine.* 1998; 20(3):331-42.
3. Zerah M, Pang S, New M. Morning salivary 17 hydroxylase is a useful screening test for nonclassical 21 hydroxylase deficiency. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 1987; 65:227-32.
4. Witchell S, Lee P et al. Evidence for a heterozygote advantage in congenital adrenal hyperplasia due to 21 hydroxylase deficiency. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 1996; 81:3180-9.

5. Van Wyk J, Gunther D, et al. The use of adrenalectomy as a treatment for congenital adrenal hyperplasia. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1996; 81:3180-9.
6. Williams RH, Larsen PR, Kronenberg HM, Meldmed S, Polonsky K (eds). *Williams Textbook of Endocrinology*. 10th Ed. Filadelfia: Saunders; 2002:994.
7. Forest M. Prenatal diagnosis, treatment, and outcome in infants with congenital adrenal hyperplasia. *Current Opinion in Endocrinology and Diabetes*. 1997; (4):209-17.
8. Nimkarn S, New MI. Prenatal diagnosis and treatment of congenital adrenal hyperplasia. *Horm Res*. 2007; 67:53-63.
9. Nimkarn S, New MI. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. A paradigm for prenatal diagnosis and treatment. *Ann. NY Acad. Sci*. 1992; 5(11):2010.
10. Forest M, Morel Y, David M. Prenatal treatment of congenital adrenal hyperplasia. *Tem*. 1988; 9(7):284-8.
11. Carlson AD, Obseid JS, et al. Congenital adrenal hyperplasia: update on prenatal diagnosis and treatment. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 1999; 69:19-29.
12. Wedell A. An update on the molecular genetic of congenital adrenal hyperplasia: diagnostic and therapeutic aspects. *Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism*. 1998; 11:581-9.
13. Pang S, Wallace M, et al. Worldwide experience in newborn screening for classical congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Pediatrics*. 1988; 81:866-74.
14. Gardner P. Congenital adrenal hyperplasia in pregnancy. *Seminars of Perinatology*, 1988; 22(6):446-56.
15. Ritzen E, Lajic S. Outcome of prenatal dexamethasone treatment of congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinologist*. 2003; 13:219-23.
16. Guidollet V, Menasa R, et al. New management strategy of pregnancies at risk of congenital adrenal hyperplasia using fetal sex determination in maternal serum: French cohort of 258 cases (2002-2011). *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 2014; 99:1180-8.
17. Nimkarn S, New MI. Prenatal diagnosis and treatment of congenital adrenal hyperplasia owing to 21-hydroxylase deficiency. *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.*; 2007; 3:405-13.
18. Vos A, Bruinse H. Congenital adrenal hyperplasia do the benefits of prenatal treatment defeat the risks? *Obstetrical and Gynecological Survey*. 2010; 65(3).
19. New MI, Tong Y, et al. Non invasive prenatal diagnosis of congenital adrenal hyperplasia using cell free fetal DNA in maternal plasma. *J. Clin. Endocr. Metab.* 2014; 99:E1022-E1030.
20. Claahsen Van der Grinten HL, Sillebroeck NM, Otten BJ. Congenital adrenal hyperplasia. Pharmacologic interventions from prenatal phase to adulthood. *Pharmacology & Therapeutics*. 2011; 132:1-14.
21. Young W, Klee G. Congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North American*. 1997; 26(4).
22. Turcu A, Auchus RJ. Adrenal steroidogenesis and congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinology and Metabolism Clinical of North American*. 2015; 44(2):275-96.
23. Merke D, Gordon MD, Cutler MD. New approaches to the treatment of congenital adrenal hyperplasia. *JAMA*. 1997; 277(13):1073-6.
24. Miller W. Prenatal treatment of congenital adrenal hyperplasia: a promising experimental therapy for unproven safety. *TEM*. 1988; (7):290-2.
25. Schnitzer JJ, Donahoe PK. Surgical treatment of congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am*. 2001; 30:137-54.
26. New MI, Carsol A, Obeid J, Marshall I, Cabrera MS, Goseco A, et al. Prenatal diagnosis of congenital adrenal hyperplasia in 532 pregnancies. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 2001; 86:5671-7.
27. Forest MG. Recent advances in the diagnosis and management of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Hum. Reprod. Update*. 2004; 10:469-85.
28. Fernandez-Balsells M, Muthusamy K, Sumushkin G, Lampropulos J, Elamin M, et al. Prenatal dexamethasone use for the prevention of virilization in pregnancies at risk for classical congenital adrenal hyperplasia because of 21-hydroxylase (CYP2A2) deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Endocrinology*. 2010; 73: 436-44.
29. Berenbaum S, Duck S, Bryk K. Behavioral effects of prenatal vs postnatal androgen. *Metab*. 2000; 85:727-33.
30. Berenbaum SA, Gordon MD, Cutler MD. Neuropsychological follow up in neonatal screening; issues, methods and findings. *Acta Paediatrica*. 1999; 432:83-87.
31. Seckk J, Miller W. How safe is long-term prenatal glucocorticoid treatment. *JAMA*. 1997; 13:1077-9.
32. Mnif M, Kamoun M, Kacem F, et al. Reproductive outcomes of female patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2013; 17(5):790-3.
33. Tajima T, Ma XM, et al. Prenatal dexamethasone treatment does not prevent alterations of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in steroid 21-hydroxylase deficient mice. *Endocrinology*. 1999; 140:3354-62.
34. Forest MG, Dorr HG. Prenatal therapy in congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency: retrospective follow up study of 253 treated pregnancies in 215 families. *Endocrinologist*. 2003; 13:252-9.
35. White P, Speiser P. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocrine Reviews*. 2000; 21:245-91.
36. Pang S, Clark AT, Freeman LC, Dolan LM, Immken L, Mueller OT, Stif D, Shulman DI. Maternal side effects of prenatal dexamethasone therapy or fetal congenital adrenal hyperplasia. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 1992; 75:249-53.
37. Phylakos W, Speiser MD, Perrin C, White MD. Congenital adrenal hyperplasia. *N. Engl. J. Med*. 2003; 349:776-88.
38. Pang S, Pollak MS, Marshall R, Immek L. Prenatal treatment of adrenal congenital hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *N. Eng. J. Med*. 1990; 332:111-5.
39. Lajic S, Wedell A, et al. Long-term somatic follow up of prenatally treated children with congenital adrenal hyperplasia. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1998; 83:3872-80.
40. Spenser P, White P. Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21-hydroxylase deficiency. *Clinical Endocrinology*. 1998; 49:411-7.
41. Hall CM, Jones JA, Meyer Bahlburg HL, Dolezal C, et al. Behavioral and physical masculinization are related to genotype in girls with congenital adrenal hyperplasia. *J. Clinical Endocrinol. Metab*. 2004; 89:419-24.
42. Ritzén E. Prenatal treatment of congenital adrenal hyperplasia: a commentary. Elsevier Science. S, Wedell A; *The Hung TEM*. 1998; 9(7).
43. Chin D, Speiser P, et al. Study of a kindred with classical congenital adrenal hyperplasia: diagnostic challenge due to phenotypic variance. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 1998; 83:1940-5.