

HIPERPLASIA ADRENAL CONGÊNITA E AMBIGUIDADE GENITAL COMO FATOR DE COMPLICAÇÃO

Larissa Martins Helcias*; Fernanda Vinhaes de Lima**

RESUMO – Este trabalho apresenta revisão bibliográfica sobre a Hiperplasia Adrenal Congênita (HAC), destacando a ambiguidade genital como fator de complicação no reconhecimento da doença. Reconhecida como erro inato do metabolismo caracterizado pela deficiência na síntese do cortisol. Existem pelo menos sete enzimas envolvidas na cascata de produção do cortisol, sendo que a deficiência mais comum é a da enzima 21-hidroxilase. A forma clássica perdedora de sal, uma das formas de manifestação da HAC, é a forma mais severa e letal da doença. Uma de suas complicações ocorre pelo acúmulo dos androgênios não metabolizados corretamente, causando ambiguidade genital ao nascimento, principalmente em meninas. O diagnóstico precoce é realizado através de imunoenaios para a dosagem da 17-hidroxiprogesterona, precursor acumulado pela falta da enzima 21-hidroxilase. Esse teste de triagem neonatal visa à precocidade da identificação da doença para que ocorra a intervenção e assim sejam diminuídos os sinais e sintomas da mesma.

Palavras-chaves: Hiperplasia Adrenal Congênita; 21-Hidroxilase; Ambiguidade genital; Triagem neonatal.

ABSTRACT – This paper presents a literature review on Congenital Adrenal Hyperplasia (CAH), highlighting the genital ambiguity as a factor complicating the recognition of the disease. Recognized as an inborn error of metabolism characterized by deficient synthesis of cortisol. There are at least seven enzymes involved in the production of cortisol and the most common deficiency, is of the enzyme 21-hydroxylase. The classic salt-wasting form, is one of CAH manifestations, and it is the most severe and lethal one. One of its complications is the accumulation of androgens not metabolized properly, causing genital ambiguity at birth, especially in girls. Early diagnosis is performed by immunoassay for the determination of 17-hydroxiprogesterone, a precursor accumulated by the lack of the enzyme 21-hydroxylase. This Newborn Screening test aims to identify the disease early so that intervention occurs, reducing the signs and symptoms of it.

Key-Words: Adrenal Congenital Hyperplasia; 21-Hydroxylase; Genital Ambiguity; Neonatal Screening

* Graduada do curso de Biomedicina, Centro Universitário de Brasília - UniCEUB, Brasília/DF

** Doutora em Patologia Molecular, professora do curso de Biomedicina, Centro Universitário de Brasília - UniCEUB, Brasília/DF. e-mail: fernanda.lima@uniceub.br

Introdução

A ambiguidade genital é classificada como um Distúrbio do Desenvolvimento Sexual (DDS) definido por condições congênitas atípicas do desenvolvimento cromossomal, gonadal e anatômico (ERDOGAN et al., 2011). O embasamento para a discussão a respeito da diferenciação e determinação sexual se concentra em questões fisiológicas, psicológicas e sociológicas, não só em determinações biológicas (BRUNHARA; PETEAN, 2003).

A ambiguidade é um sinal clínico das doenças do distúrbio do desenvolvimento sexual que se manifestam de diversos graus. Dentre essas doenças causadoras de ambiguidade genital, há a Hiperplasia Adrenal Congênita (HAC), considerada a causa mais frequente dessa manifestação em crianças do sexo feminino. Sendo assim, é importante a investigação e o diagnóstico da mesma, uma vez que pode evoluir para óbito (CASTRO, 2005).

A Hiperplasia Adrenal Congênita é uma doença autossômica recessiva, que resulta da perda parcial ou total da funcionalidade das enzimas necessárias para a metabolização do colesterol conseguinte a formação de cortisol e aldosterona. As deficiências enzimáticas mais comuns que podem evoluir a HAC são: 21-hidroxilase (CYP21A2) e a 11-beta-hidroxilase (CYP11B1), que corresponde 5% da HAC. Os casos raros são representados por deficiência das enzimas: 20,22-desmolase (CYP11A1), 17-alfa-hidroxilase (CYP17), 3-beta-hidroxisreróide-desidrogenase (HSD3B2), aldosterona sintase (CYP11B2) e a hiperplasia lipóide (StAR) (GADELHA, 2003).

A deficiência da enzima 21-hidroxilase é a mais comum, responsável por 90 – 95% dos casos de HAC. Sua função é dar continuidade à cascata de formação do cortisol, transformando a 17-hidroxiprogesterona em 11-deoxicortisol; e à cascata da aldosterona, transformando a progesterona em 11-deoxicorticosterona. Devido ao mau funcionamento da enzima ocorre o acúmulo dos hormônios precursores e a falta do cortisol (CONCOLINO et al., 2010).

Com a falta da produção do cortisol há o estímulo do hipotálamo liberando o hormônio liberador de corticotrofina (CRH), que por sua vez media o estímulo da hipófise para a liberação do hormônio adenocorticotrófico (ACTH), que é controlado

pelo *feed-back* negativo do cortisol. Como a secreção do ACTH ocorre de forma contínua, existe hiperestimulação das glândulas adrenais e assim uma hiperplasia da mesma (VARGAS; KURDIAN, 2002).

A classificação da HAC é baseada nas formas de manifestação da mesma, sendo esta distribuída em: forma clássica, subdividida em virilizante simples e perdedora de sal; e a forma não clássica. A forma clássica da doença possui frequência de 1:10.000 a 1:15.000 em toda população mundial, já a forma não clássica é mais comum, tendo sua frequência de 1:1.000 em toda população mundial (REISCH et al., 2011).

A desidratação severa, característica da forma perdedora de sal, a virilização e o desenvolvimento das características sexuais secundárias, podem ser prevenidas através de um diagnóstico precoce eficiente e com o início de um tratamento de reposição esteroideal. A 17-Hidroxiprogesterona é o principal marcador bioquímico para a detecção da HAC por deficiência da 21-hidroxilase (GONZÁLES et al., 2003).

Devido às potentes manifestações da HAC, e a possibilidade de realização de um teste simples e de baixo custo para a obtenção do diagnóstico precoce, foi criado um programa com base na bateria de testes para todos os recém-nascidos, que porventura possam apresentar HAC. Este consiste na triagem neonatal, estabelecido pelo uso da técnica de sangue seco, colhido em papel de filtro. A partir daí, notou-se que a especificidade do teste varia em 97%, quando realizado a primeira vez e 99,8% quando realizado pela segunda vez. Esses dados dependem do kit e do protocolo operacional escolhidos por cada laboratório (FITNESS et al., 1999).

O objetivo deste trabalho é realizar revisão bibliográfica sobre Hiperplasia Adrenal Congênita, caracterizando suas variações e manifestações, destacando a ambiguidade genital como uma das complicações e formas de agravamento. Além disso, este trabalho objetiva apresentar uma das soluções diagnósticas precoces como a triagem neonatal. O presente trabalho apresenta como principal metodologia a pesquisa bibliográfica de artigos já publicados nas revistas científicas como Pubmed, Scielo revista Médica, Nature Reviews Endocrinology, Ministério da Saúde do Distrito Federal dentre outros. Achados em inglês, português e espanhol. Os descritores utilizados como critérios de inclusão dos artigos para a pesquisa bibliográfica foram principalmente: hiperplasia adrenal congênita, ambiguidade genital, triagem neonatal e outras formas de diagnóstico.

Diferenciação Sexual

O processo de diferenciação sexual de um indivíduo não é apenas definido por características externas. Mas por processos hormonais, psicológicos, psicossociais, que determinam a identidade desse indivíduo. A partir do momento que esses fenômenos fogem daquilo que se denominam “normais”, os processos de reconhecimento desse indivíduo como um ser humano psicologicamente e socialmente diferente, já não podem ser definidos por um padrão (CASTRO, 2005).

A diferenciação sexual começa na união dos gametas feminino e masculino, óvulo (23, X) e espermatozóide (23, X ou 23, Y). Normalmente, a diferenciação sexual se dá pelo estabelecimento do sexo cromossômico (meninos com 46 XY e meninas com 46, XX), em seguida pela diferenciação gonadal, e conseqüentemente a determinação fenotípica (RODRIGUES, 2004).

O estabelecimento do sexo gonadal inicia-se por volta da terceira semana de vida intra-uterina quando ocorre a migração das células germinativas do saco vitelino para as pregas gonadais. Com a chegada das células germinativas, começam a proliferação do epitélio celômico que irá penetrar no mesênquima subjacente que dará origem a crista genital. Conforme vão se organizando vai sendo formado os cordões sexuais primários, que servirão de suporte para as células que entrarão para formar a gônada primitiva. Até então, todos os embriões são fenotipicamente iguais, apresentando os ductos de Muller e Wolff, podendo se diferenciar tanto em ovários como em testículos. Esse evento permanece em torno da sétima semana de desenvolvimento. A genitália externa, durante esse período de 6 a 7 semanas, aparece como feminino e com um tubérculo genital, pregas urogenitais e uma abertura urogenital (DAMIANI et al., 1986).

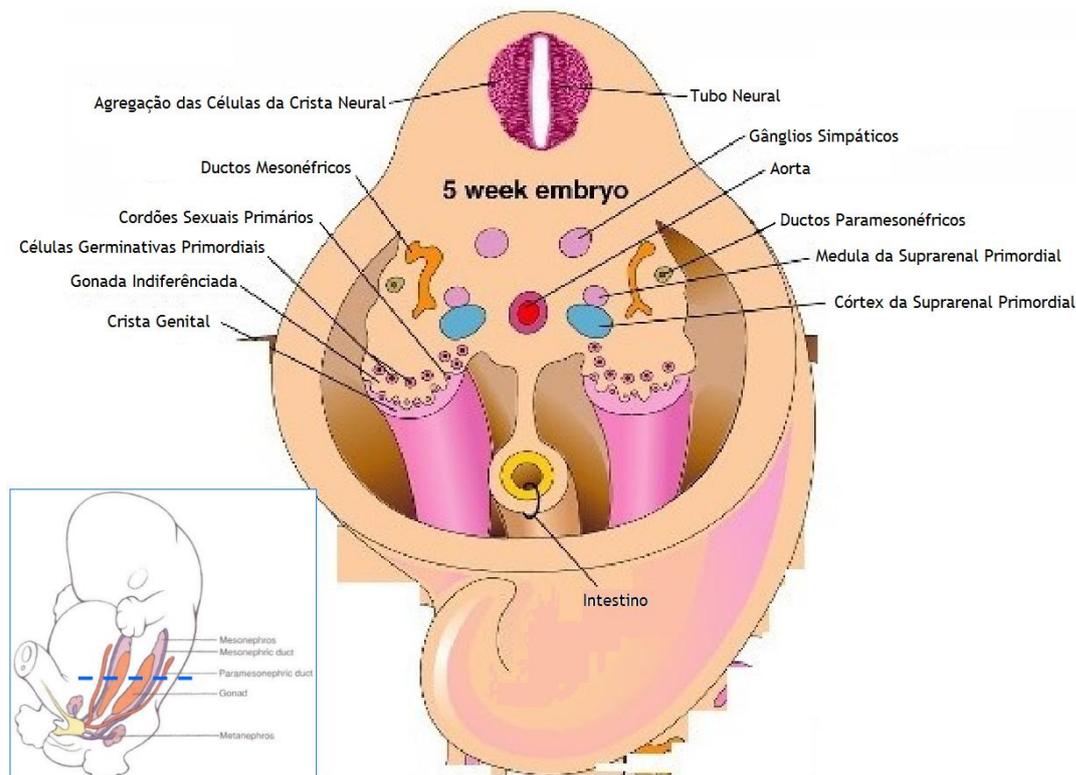


Figura 1. 5ª Semana embrionária de gestação. Fonte: Contexto dos Ductos e túbulos mesonéfricos paramesonéfricos e gônadas, 2011.

Durante o processo de diferenciação gonadal, os mecanismos regulatórios se realizam através dos controles hormonais e da expressão dos genes, nos cromossomos sexuais e em outros *loci* nos cromossomos somáticos. Estes genes são importantes tanto para o desenvolvimento das gônadas masculinas como as femininas (HUGHES, 2001).

A partir da formação da crista genital começam a ser expressos alguns genes que darão início a cascata de eventos para a formação das gônadas masculinas, e alguns genes suprimidos no caso da formação as gônadas femininas. Os genes: SF-1 (Fator Esteroidogênico), WNT-4 (Tipo Wingless), WT-1 (Supressor Tumoral de Wilms) são primariamente expressos na crista genital e possuem o papel de dar início à formação das gônadas, rins e córtex adrenal. O gene SF-1 (localizado no cromossomo 9p33), está envolvido na biossíntese dos hormônios adrenais e gonadais e no desenvolvimento do núcleo ventral do hipotálamo, agindo como regulador da função endócrina e do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas e córtex adrenal, além de ser um fator determinante da diferenciação sexual. Sua expressão é continuada no desenvolvimento dos testículos e é suprimida nos indivíduos 46, XX (DOMENICE et al., 2002).

A seguir na cascata de eventos, o gene WT-1, é precocemente expresso nas saliências da crista genital, ou seja, nas gônadas bipotenciais antes da expressão do gene SRY (Região Determinante do Sexo no Cromossomo Y) e de genes determinantes de ovários. O gene WT-1 localiza-se no cromossomo 11p13, e é essencial para o desenvolvimento da gônada primitiva e renal. Sua expressão ativa a transcrição do gene SRY, também denominado TDF (Fator Determinante de Testículos), que são genes que desencadearão a formação das gônadas masculinas (MELLO et al., 2004).

Desde o final dos anos 1950, já se era conhecido o cromossomo Y por seu papel determinante das características sexuais masculinas, quando se iniciou os estudos do cariótipo humano. O gene SRY, se encontra no braço curto do cromossomo Y (Yp 11.3), sendo um agente indutor nas células da crista genital indicando os primeiros sinais de diferenciação testicular. O desenvolvimento dos testículos se inicia quando há a transformação das células de suporte em células de Sertoli, que dará início a sequência dos desenvolvimentos das outras células da gônada. Assim, células esteróidicas darão origem as células de Leydig e as células germinativas em espermatogônias. A ação do gene SRY, sugere que este aja como regulador do gene supressor da inibição do desenvolvimento testicular (GUERRA JUNIOR; GUERRA, 2007).

Há também a expressão do gene DAX-1, localizado no *locus* DSS (Dosagem Sensitiva do Sexo Reverso) no cromossomo X (Xp21), cuja função está envolvida na formação da gônada indiferenciada. Sua expressão foi demonstrada primariamente nos tecidos esteroidogênicos, tais quais, córtex adrenal, testículos (células de Leydig), ovários (células da teca e granulosa), hipófise, hipotálamo e crista genital. O processo de inativação do cromossomo X se dá antes da 8ª a 12ª semana, quando a diferenciação gonadal se inicia. A expressão do gene SRY se estabelece, e a função DSS é reprimida e ocorre a formação testicular no sexo masculino (KIM et al., 1999).

Conseqüentemente, o gene SOX-9 (SRY-relacionado HMG-box gene), membro da família SOX que contém um núcleo HMG *Box* semelhante ao gene SRY, localizado no cromossomo 17 (17q24), é essencial para o desenvolvimento precoce dos testículos. Ele regula a expressão dos genes, FGF9 (Fator de crescimento fibroblástico) e PGD2 (Prostaglandina D2), o qual mantém a expressão do SOX-9 formando um feedback positivo nas gonadas XY. Este juntamente com o gene SF-1 regula a produção do hormônio anti-Mulleriano, secretado pelas células de Sertoli, que agem nos ductos de

Muller causando sua regressão. As células de Leydig produzem a testosterona que é convertida periféricamente pela enzima 5 α -redutase em dihidrotestosterona, a qual irá agir sob os ductos de Wolff induzindo-os a diferenciação e transformação em epidídimos, canal deferente, vesícula seminal e ducto ejaculatório (MIGEON; WISNIEWSKI, 2003).

Na ausência de qualquer desses genes responsáveis pela diferenciação gonadal masculina (SRY e SOX-9), o curso diferencial segue para a determinação feminina. O gene DAX-1, importante para desenvolvimento dos dois sexos, se apresentado na forma de dupla expressão, dará início ao desenvolvimento dos ovários. O gene WNT-4 junto com o gene RSPO1 (R-Spondin 1), são predominantes nas gônadas femininas e induzem a expressão β -catenina, que por sua vez silencia o gene FGF9 e SOX9 (ÖÇAL, 2011).

O gene WNT-4, localizado no cromossomo 1 (1p31- 1p35), exerce papel importante no desenvolvimento dos ovários com a manutenção e formação dos ductos de Muller, além da esteroidogênese ovariana. Ele está também envolvido no desenvolvimento dos rins, da adrenal, da hipófise e tecido mamário. Embora sua função seja importante no desenvolvimento inicial de ambos os sexos, sua expressão é diminuída do decorrer da formação dos testículos, e permanece na dos ovários (GUERRA JUNIOR; GUERRA, 2002).

O gene FOXL2 (Fator 2 da família de Transcrição) possui efeito nos ovários, precocemente na crista genital, pós-natal e na vida adulta. Ele está envolvido da diferenciação das células da granulosa, desenvolvimentos dos folículos ovarianos e na manutenção durante a vida fértil. Os ductos de Muller por fim, irão dar origem ao útero, tubas uterinas e a porção superior da vagina. O tubérculo genital formará o clitóris, as pregas lábioescrotais os grandes lábios e as pregas uretrais os pequenos lábios. (SCHLESSINGER et al., 2010).

Ambiguidade Genital

Em 2006, foi proposto pelas Sociedades Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society (LWPES) e pela European Society for Paediatric Endocrinology (ESPE), uma nova nomenclatura para o termo distúrbios intersexuais, substituído por Distúrbios do

Desenvolvimento Sexual (DDS), definido por condições congênitas nas quais o desenvolvimento dos sexos cromossômico, gonadal, ou anatômico sejam atípicos. A proposta de mudança para cada termo foi: DDS do sexo cromossômico; DDS 46,XY (anteriormente como pseudohermafroditismo masculino); DDS 46,XX (anteriormente como pseudohermafroditismo feminino). Houve também a inclusão nas categorias de DDS ovotesticular (conhecida como hermafroditismo verdadeiro) e disgenesia gonadal mista 45,X/46,XY; as síndromes de Turner e de Klinefelter, que não estavam incluídas na classificação anterior de distúrbios intersexuais. As classificações de diagnóstico para DDS propostas pelas sociedades (Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society/ European Society for Paediatric Endocrinology) também foram definidas por serem baseadas nas análises cruciais do cariótipo. Por essa razão as DDS ovotesticulares foram divididas em três categorias XX, XY e XX/XY. E também há a inclusão da síndrome do desaparecimento testicular e a síndrome de Turner, com as quais não estão associadas as ambiguidades genitais ao nascimento (LEE et al., 2006).

De acordo com Danish em 1982, os critérios de diagnóstico para ambiguidade genital pode ser realizado com as características a seguir:

Em genitália com aparência masculina:

- Gônadas não palpáveis;
- Tamanho peniano esticado abaixo de 2,5 desvios padrão em relação à média para idade;
- Gônadas pequenas, ou seja, maior diâmetro inferior a 8mm;
- Presença de massa inguinal (que poderá corresponder a útero e tubas uterinas rudimentares);
- Hipospádia.

Em genitália com aparência feminina:

- Diâmetro clitoriano superior a 6mm;
- Gônada palpável em saliência lábioescrotal;
- Fusão labial posterior;
- Massa inguinal que possa corresponder a testículos.

A observação dessas características pode ser passível de suspeita de ambiguidade genital, de modo que hipospádia e criptorquidia bilateral devem ser analisadas para que não haja um diagnóstico equivocado de DDS (ANDRADE et al., 2008).

Além desses critérios de para o diagnóstico da ambigüidade existe ainda a classificação de Prader, criada em 1954, que visa à classificação dos graus de virilização. A escala de Prader varia de 0 a 5, onde 0 classifica-se como genitália externa feminina normal e 5 classifica-se como genitália externa masculina normal.(DAMIANI et al, 2001)

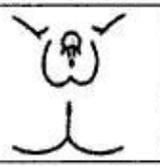
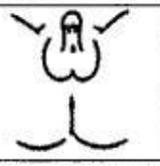
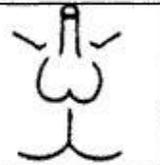
| | |
|---|---|
| <p>Prader 0: Genitália externa feminina normal</p> |  |
| <p>Prader 1: Genitália externa feminina com clitorimegalia Virilização ocorreu provavelmente após 20ª semana de gestação</p> |  |
| <p>Prader 2: Clitorimegalia associada a intróito em forma de funil Abertura vaginal e uretral distintas Virilização ocorreu provavelmente antes da 19ª semana de gestação</p> |  |
| <p>Prader 3: Clitorimegalia, completa fusão labioescrotal, formando seio urogenital – uretra esvazia-se na vagina Virilização ocorreu provavelmente na 14ª ou 15ª semana de gestação</p> |  |
| <p>Prader 4: Fusão escrotal completa, com abertura urogenital em fenda na base do falo Virilização ocorreu provavelmente na 12ª ou 13ª semana de gestação</p> |  |
| <p>Prader 5: Genitália externa masculina normal Virilização ocorreu provavelmente antes da 11ª semana de gestação</p> |  |

Figura 2. Classificação de Prader para genitália feminina que sofreu virilização. Fonte: LOPES, 2007.

Em casos de ambigüidade genital em indivíduos 46,XX e gônadas não palpáveis, deve-se ter como principal hipótese diagnóstica a Hiperplasia Adrenal Congênita. Nesses casos, essa hipótese deve ser investigada, pois algumas formas da doença podem apresentar-se de forma potencialmente letal (GUERRA JUNIOR; GUERRA, 2007).

Hiperplasia Adrenal Congênita

A Hiperplasia Adrenal Congênita (HAC) é definida por um grupo heterogêneo de doenças autossômicas recessivas, caracterizadas por um erro inato do metabolismo na síntese do cortisol causado pela deficiência das enzimas necessárias por sua produção. Por esse motivo, pela falta de produção do cortisol, há o estímulo do hipotálamo com consequente secreção do hormônio liberador de corticotrofina (CRH), que sendo um mediador importante, estimula a hipófise para a liberação do hormônio adenocorticotrófico (ACTH), que é controlado pelo *feed-back* negativo do cortisol (AYALA, 2002).

Como consequência desse processo de estimulação constante, ocorre o aumento e o acúmulo dos precursores: 17-hidroxiprogesterona, pregnenolona, 17-hidroxipregnenolona e progesterona, que também participam da via de biossíntese dos andrógenos. Porém com o acúmulo desses esteróides, são desviados na glândula adrenal para a via androgênica resultando no excesso de secreção de dehidroepiandrosterona (DHEA), androstenediona e testosterona. Assim, no início da gestação esses andrógenos são responsáveis por virilizar a genitália nos fetos do sexo feminino, causando a ambigüidade, classificada da escala de Prader de 1 a 5, essas crianças nascem com a genitália com Prader 4. (NEW; WILSON, 1999).

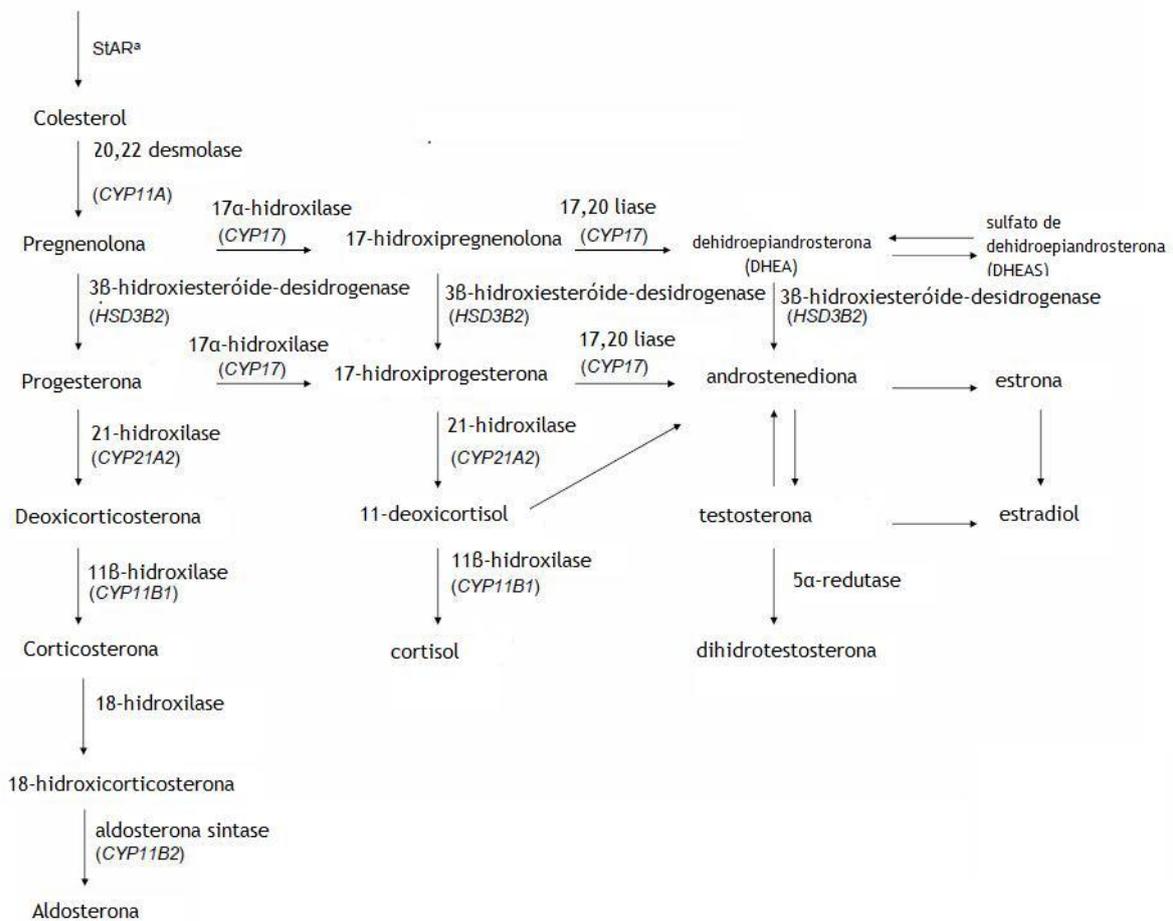


Figura 3. Rota sintética da síntese de esteróides adrenal. Fonte: QUEST DIAGNOSTICS, 2009.

A incidência dessa doença varia de acordo com as diversas populações. Estima-se que a forma perdedora de sal (que é a forma de manifestação mais severa da HAC) apresente incidência de 1:280 a 1:42.000 nascidos-vivos. No Brasil, a incidência dessa forma perdedora de sal é de aproximadamente 1:7.500 a 1:10.000 nascidos-vivos. De acordo com a Portaria Nº 16, do Ministério da Saúde publicada em 2010, as deficiências mais comuns da HAC são enzimáticas sendo elas:

- Deficiência da 21-hidroxilase (CYP21A2);
- Deficiência da 11-beta-hidroxilase (CYP11B1);
- Deficiência da 20,22 desmolase (CYP11A1);
- Deficiência da 17-alfa-hidroxilase (CYP17);
- Deficiência da aldosterona sintase (CYP11B2);

- Deficiência da 3-beta-hidroxiesteróide-desidrogenase (HSD3B2);
- Hiperplasia lipóide (StAR- síntese da proteína reguladora aguda da esteroidogênese).

Responsável por 90 – 95% dos casos de HAC, a deficiência da 21-hidroxilase é uma enzima que está na rota de produção do cortisol. Ela participa da conversão da 17-hidroxiprogesterona em 11-desoxicortisol (composto S), que por sua vez é convertido em cortisol pela enzima 11-beta-hidroxilase (SPEISER et al., 2010).

A 21-hidroxilase pertence à família das isoenzimas citocromos P450 (ou CYP), o qual pertence ao grupo de heme-proteínas que estão incorporadas principalmente na bicamada lipídica do retículo endoplasmático liso dos hepatócitos, que participam também da metabolização de esteróides (BIBI, 2008).

O gene da 21-hidroxilase (CYP21A2) está localizado no locus do complexo principal de histocompatibilidade humana classe III, no braço curto do cromossomo 6 (6p21.3). As mutações do gene CYP21A2 são comumente atribuídas a completas deleções do gene, grandes conversões gênicas, mutações de único ponto e deleções de 8 pares de base. Devido à localização de seu pseudogene não-funcional CYP21A1P (com o qual compartilha 98% de similaridade), estar numa região onde ocorre uma frequência alta de recombinações gênicas, microconversões ou conversões gênicas, há a aparente transferência de material genético inativo do gene CYP21A1P para dentro do gene ativo CYP21A2, no qual ocorre a mais comum causa de deleções pontuais e a deleção de 8 pares de base (KRONE; ARLT, 2008).

A perda da atividade total ou parcial da enzima 21-hidroxilase leva à baixa produção de glicocorticóides (cortisol) e em alguns casos de mineralocorticóides (aldosterona), já que essa enzima é responsável pela conversão enzimática dessas duas substâncias. O cortisol é um hormônio pertencente à família dos esteróides, decorrente do processo de metabolização do colesterol, mediada inicialmente pelas enzimas StAR e 20,22 desmolase, para a transformação para pregnenolona. Esses processos da cascata enzimática para a formação de cortisol, aldosterona e androgênios se diferem por regiões da adrenal. Cortisol, na zona fasciculada do córtex, aldosterona, na zona glomerulosa e androgênios na camada reticular da glândula (LEVINE, 2000).

Decorrente desse funcionamento variável da enzima 21-hidroxilase deficiente há também manifestações fenotípicas diferenciadas da HAC por essa deficiência. A doença

se apresenta em duas formas clínicas: clássica, subdividida em perdedora de sal e a virilizante simples; e a não clássica, subdividida em sintomática e assintomática (ou críptica) (LISÁ et al., 2010).

A forma clássica perdedora de sal decorre de uma perda completa do funcionamento da enzima, caracterizando a deficiência de produção de cortisol e aldosterona com consequente produção excessiva de androgênios, além de estar presente a ambiguidade genital no sexo feminino. Sendo a forma mais severa da doença, corresponde a 75% dos casos de HAC, e é marcada pelas características da crise adrenal incluindo grande perda de sódio e água na urina. Como consequência dessas manifestações a criança segue com quadro de hiponatremia, hipocalemia, hipoglicemia, acidose metabólica, desidratação devido à vômitos, hipotensão, arritmias, letargia, diminuição do apetite, regurgitação, má evolução ponderal, choro fraco, má perfusão periférica, convulsões, hiper-reninemia e choque hipovolêmico. Se não tratada com glicocorticóides e mineralocorticóides pode evoluir ao óbito se essa crise adrenal aguda se agravar logo entre o quinto e o décimo-quarto dia de vida, podendo ser mais tardia naqueles pacientes que ainda apresentam alguma atividade enzimática (no caso da virilizante simples) (GADELHA, 2003).

Na forma clássica virilizante simples não há perda de sal, pois a enzima apresenta funcionalidade parcial (AL-MAGHRIBI, 2007), produzindo aldosterona suficiente para a manutenção do controle do sistema renina-angiotensina-aldosterona, mantendo a estabilidade hemodinâmica do corpo. Porém, há baixas taxas de síntese do cortisol. Com isso, o aumento na produção de andrógenos, por falta do feedback do cortisol, se dá desde o início da gestação, causando ambiguidade genital em graus variados, principalmente no sexo feminino, onde há a virilização progressiva após o nascimento podendo variar desde discreta clitoromegalia até uma genitália completamente virilizada. A identificação sexual desses pacientes ocorre pelo exame físico da genitália externa e pela apalpação de gônadas. Os ovários e útero desenvolvem-se normalmente, apesar de poder ocorrer amenorréia e infertilidade em adultos. Além da virilização, nesses casos as manifestações podem surgir como: hirsutismo no sexo feminino, pilificação pubiana precoce e excessiva, acne, infertilidade, e maturação acelerada dos ossos, havendo a fusão epifisária precoce e redução da altura final, em ambos os sexos. No sexo masculino, a genitália externa é normal ao nascimento, mas a exposição contínua às altas taxas de andrógenos, sem tratamento adequado, provoca o apa-

recimento precoce dos caracteres secundários masculinos, com crescimento progressivo do pênis, sem aumento correspondente do volume testicular (BENTO et al., 2007).

A forma não clássica da doença possui prevalência mundial de 1:1000 habitantes, sendo mais frequente em populações de Judeus da Europa Oriental (Ashkenazi), Hispânicos e Iugoslavos (MINUTOLO et al., 2011). Esta representa uma deficiência parcial da enzima 21-hidroxilase, e sua manifestação depende de mutações parciais nos dois alelos do cromossomo 6, que codificam a enzima. Essa forma é rara de ser diagnosticada após a puberdade, e normalmente suspeita-se dessa condição em meninas com hirsutismo e ciclos menstruais desregulares. É caracterizada por sinais de hiperandrogenismo mais leves e de início tardio. As formas sintomáticas de início tardio podem ocorrer na puberdade ou em épocas variáveis, resultando em pubarca precoce, amenorréia primária ou secundária, hirsutismo, anormalidades ovulatórias, acne e infertilidade (LIMA et al., 2009). Já a forma não clássica assintomática não apresenta manifestações clínicas da doença, porém possui o mesmo perfil hormonal da sintomática, sendo diagnosticada somente quando ocorre uma investigação familiar de algum indivíduo afetado (MELLO et al., 2002).

Para se fazer o diagnóstico de indivíduos com HAC, é necessário basicamente a verificação dos níveis de 17-hidroxiprogesterona séricos e investigação do gene CYP21A2. Nos métodos pré-natais, podem-se verificar testes como: os métodos de biologia molecular genético (realizados entre 9-11^a semana de gestação) usando a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), para a amplificação do gene CYP21A2. O material biológico usado, normalmente são células amnióticas, por amniocentese e punção das vilosidades coriônicas (LEE et al., 2000). Há também a dosagem dos níveis de 17-hidroxiprogesterona, 21-deoxicortisol, androstenediona e testosterona no líquido amniótico durante a gestação. E, pela razão de que os genes do complexo HLA estão intimamente relacionados aos genes da 21-hidroxilase percebeu-se que indivíduos afetados da mesma família possuíam identidades de HLA quase que invariável. Por isso, antes do advento da biologia molecular para a identificação do gene, usava-se a tipagem de HLA como um dos diagnósticos pré-natais das gestações de risco (LAJIC et al., 1998).

Há também o diagnóstico tardio, para aqueles casos de hiperplasia adrenal congênita não clássica, que nem sempre é possível sua identificação ao nascimento, já que os

níveis de 17-Hidroxiprogesterona (17-OHP) podem apresentar-se normais. Desta maneira, o exame de estímulo na hipófise com o ACTH, juntamente com testes bioquímicos e estudos moleculares, se mostram eficazes na sua aplicabilidade e resultados finais (ELIAS; CASTRO, 2003).

Triagem Neonatal no diagnóstico de HAC

A triagem neonatal (TN) é um método eficiente de se diagnosticar precocemente diversas doenças genéticas que se manifestam fenotipicamente no período pós-natal, a fim de intervir no curso da doença, evitando a instalação dos sinais e sintomas que podem levar o recém-nascido ao óbito. Popularmente conhecido como “teste do pezinho”, é realizado através de gotas de sangue colhidas por um papel de filtro (GREEN et al., 2006).

A história da triagem neonatal iniciou-se em 1961 com o professor Robert Guthrie nos Estados Unidos, quando este desenvolveu a primeira técnica para dosagem da fenilalanina em amostras de sangue seco colhido em papel de filtro. No Brasil, a TN teve seu início em 1976, quando o professor Benjamin Schmidt criou o projeto pioneiro de triagem neonatal para fenilcetonúria junto com à Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais de São Paulo (APAE-SP). Dez anos depois se deu início à TN para hipotireoidismo congênito. Assim, a primeira legislação no Brasil referente à TN foi publicada em 1985 no Rio de Janeiro, tornando-a obrigatória para as duas doenças (SBTN, 2011).

Em 2001, o Ministério da Saúde publicou a portaria GM/MS nº 822, criando o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), no qual se estabeleceram três fases para a implantação do programa. Na Fase I: Fenilcetonúria e Hipotireoidismo Congênito; Fase II: Fenilcetonúria e Hipotireoidismo Congênito + Doenças Falciformes e outras Hemoglobinopatias; Fase III: Fenilcetonúria, Hipotireoidismo Congênito, Doenças Falciformes e outras Hemoglobinopatias + Fibrose Cística (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

Para que fosse possível aumentar o número de doenças triadas pelo teste do pezinho foram criadas categorias diferentes, de acordo com o número de doenças testadas em cada categoria. Desta forma, tem se tornado possível maior eficácia da detecção precoce

de doenças congênitas, minimizando assim, o impacto metabólico destrutivo à saúde do paciente, tornando-a tratável. Por essas e outras razões é que se criaram as qualificações dos testes do pezinho, sendo elas:

- **Teste do Pezinho Ampliado:** Fenilcetonúria (PKU); Aminoacidopatias; Hipotireoidismo Congênito (TSH); Hemoglobinopatias (Avaliação das Hemoglobinas); Fibrose Cística (IRT); Hiperplasia Adrenal Congênita (17 OHP).

- **Teste do Pezinho Plus:** Fenilcetonúria (PKU); Aminoacidopatias; Hipotireoidismo Congênito (TSH); Hemoglobinopatias; Toxoplasmose Congênita (IgM Ant-Toxoplasma gondii); Fibrose Cística (IRT); Hiperplasia Adrenal Congênita (17 OHP); Galactosemia (Galactose); Deficiência de Biotinidase (Atividade de Biotinidase).

- **Teste do Pezinho Máster:** Fenilcetonúria (PKU); Aminoacidopatias; Hipotireoidismo Congênito (TSH); Fibrose Cística (IRT); Hiperplasia Adrenal Congênita (17 OHP); Galactosemia (Galactose); Deficiência de Biotinidase (Atividade de Biotinidase); Hemoglobinopatias; Toxoplasmose Congênita (IGM Ant-Toxoplasma gondii); Deficiência de G-6-PD (Atividade de G-6-PD); Sífilis Congênita (Anticorpos IgM para Treponema pallidum); Citomegalovirose (Anticorpos IgM para Citomegalovírus); Doença de Chagas (Anticorpos IgG Anti-Tripanossoma cruzi); Rubéola Congênita (Anticorpos IgM Anti-Rubéola).

- **Teste do pezinho Expandido:** Fenilcetonúria (PKU); Hipotireoidismo Congênito (TSH); Hemoglobinopatias; Toxoplasmose Congênita (IGM Ant-Toxoplasma gondii); Aminoacidopatias e Distúrbios do Ciclo da Uréia (entre elas Tirosinemia e Doença do Xarope de Bordo); Distúrbios das Acilcarnitíνας (incluindo Distúrbio dos Ácidos Orgânicos e Oxidação dos Ácidos Graxos, entre eles a Cadeia Média Acil-CoA Desidrogenase - MCAD); Fibrose Cística (IRT); Hiperplasia Adrenal Congênita (17 OHP); Galactosemia (Galactose); Deficiência de Biotinidase (Atividade de Biotinidase). Realizado pelo método de Espectrometria de Massas em Tandem (CRIDI, 2011).

Em 1977, tornou-se possível o diagnóstico precoce para a doença HAC por meio da triagem neonatal com a utilização dos testes de imunoenaios. Um das técnicas utilizadas para a dosagem da 17-hidroxiprogesterona (17-OHP) pela triagem pode ser o

método de radioimunoensaio direto (sem extração), porém esta técnica é muito susceptível a reações cruzadas. A 17-OHP também pode ser dosada pelo método ELISA e por Espectrometria de Massas (MS/MS). O teste mais indicado tem sido o ensaio imunofluorimétrico, pois as reações cruzadas desse teste são reduzidas (JANZEN et al., 2007).

Para se realizar esse teste se é necessário um ponto de corte com o qual determinará a positividade do paciente para HAC. Lembrando que um teste com um resultado abaixo do ponto de corte, não significa isenção de se possuir a doença, uma vez que portadores de HAC não clássica podem apresentar níveis de 17-OHP normais ou levemente acentuados, podendo ser confirmados através do estímulo com ACTH e testes moleculares. Porém, deve-se haver cuidado com aquelas crianças que obtiverem testes neonatais, prematuros, antes de 2 dias de vida e nascidas com baixo peso, pois a 17-OHP se mostra elevada devido a incapacidade do fígado imaturo metabolizar corretamente a 17-OHP, e ainda pelo estresse causado pelo parto. Portanto é de grande importância o diagnóstico ser dosado após o 3º dia de vida (CARDOSO et al., 2005).

A realização do diagnóstico para HAC é feito através: do exame físico, presença da genitália ambígua em meninas (com atenção, pois meninos nascem com a genitália externa normal); dosagem sérica da 17-OHP; ultra-sonografia pélvica; genitograma (exame radiológico); cariótipo; sódio (baixo) e potássio (elevado) séricos; gasometria (acidose metabólica); uréia (elevada) e creatinina (elevada) séricas; sódio (elevado) e potássio (baixo) urinários (urina de 24 horas); pressão arterial (hipotensão) e renina plasmática (elevada) (MARGOTTO, 2004).

Contudo, a triagem neonatal tem sido uma grande conquista para a população nos dias de hoje. Avanço nas tecnologias de biologia molecular para testes bioquímicos tem permitido a precocidade dos diagnósticos de mais doenças genéticas que levam a melhoria de vida desses pacientes portadores de alterações genéticas. Porém, espera-se que os princípios necessários para a inclusão de uma nova patologia em um programa de triagem neonatal sejam: testes confiáveis (alta sensibilidade e alta especificidade); o programa precisa ser econômico, viável e logístico para os casos que forem detectados, sejam acompanhados até o diagnóstico final; os sinais e sintomas precisam ser reduzidos ou até mesmo eliminados pelo tratamento proposto; deve existir uma equipe

multidisciplinar mínima para o acompanhamento do paciente a fim de obter um tratamento com sucesso (ALMEIDA et al., 2006).

Tratamento da HAC

O objetivo do tratamento na HAC é a terapia de reposição de glicocorticóides e mineralocorticóides (quando necessário), para que haja supressão do ACTH produzido pela hipófise e assim, o restabelecimento do equilíbrio hormonal. Essa terapia precisa ser bem monitorada para que haja sucesso da mesma. Os glicocorticóides mais utilizados são: hidrocortisona, prednisona e dexametasona, sendo que a mais indicada para crianças é a hidrocortisona. E para os mineralocorticoides, a fludrocortisona (9 α -fluor-hidrocortisona) tem sido a mais utilizada (DAUBER et al., 2010).

A terapia de tratamento pré-natal tem seu objetivo em minimizar os sintomas da virilização da genitália externa no sexo feminino. Sua indicação é feita por haver uma suspeita de que a criança possui a forma clássica da doença, quando o casal já tiver um filho que é afetado ou quando estes forem heterozigotos para a mutação do gene CYP21A2 com atividade parcial ou total da enzima. O medicamento de escolha para o tratamento pré-natal é a dexametasona, devido à sua baixa taxa de ligação à transcortina, que é uma globulina ligadora de corticosteroide. Quando o cortisol liga-se à transcortina, este se encontra na forma inativa enquanto que a fração de cortisol livre encontra-se na forma ativa. A escolha desse medicamento também se dá por este apresentar melhor transferência placentária e meia vida mais longa, garantindo a maior supressão do ACTH (FARIA JÚNIOR et al., 2010).

A confirmação do sexo e a possível comprovação do diagnóstico são realizadas a partir da 12^a semana de gestação através da punção das vilosidades coriônicas ou por amniocentese a partir da 15^a a 20^a semana. A dose indicada é de 20 μ g/kg/dia, dividida em 3 doses, até o máximo de 1,5 mg/dia, iniciando-se antes da 8^a semana de gestação (NIMKARN, 2007).

No período pós-natal e infância o tratamento mais utilizado é a dose de 18-20 mg/m² hidrocortisona dividida em 3 doses, porém em algumas situações há a necessidade de dose supra fisiológicas para minimizar os níveis de andrógenos e a insuficiência adrenal. As doses de 9 α -fluor-hidrocortisona podem variar de 100-150 μ g/dia no

primeiro ano de vida e de 50-100 µg/dia após o segundo ano de vida. A 9α-fluor-hidrocortisona é ainda indicada nos caso de virilizantes simples, mostrando redução dos níveis de glicocorticoides necessários para o controle da hiperandrogenia (BACHEGA et al., 2001).

Há ainda terapias alternativas, que vêm sendo estudadas visando ainda mais a melhoria da qualidade de vida desses pacientes afetados pela HAC. Dentre desses medicamentos estão: análogos de agonista de liberação do hormônio luteinizante (LHRHa); inibidores da aromatase (proteínas citocromos P450); hormônio do crescimento (GH); antiandrógenos e adrenalectomia. Estes possuem o intuito de melhorar a resposta do tratamento com o aumento da estatura final desse pacientes, uma vez que eles, por ação da excessividade dos hormônios adrogênicos e fusão epifisária precoce, apresentam baixa estatura final (LIMA et al., 2009).

Considerações Finais

A Hiperplasia Adrenal Congênita é a doença mais comum de erros inatos do metabolismo e por possuir uma forma letal e que rege uma maioria dentro de sua porcentagem, a atenção de profissionais que exercem a medicina para esses pacientes precisa ser cautelosa e minuciosa na observação de pais e familiares que possuem um histórico para a doença. É fundamental fornecer exames pré-natais e consultas genéticas para esses pacientes, já que o diagnóstico nem sempre pode ser feito apenas pelo teste clínico, pois crianças do sexo masculino nascem com genitálias normais. Com isso, tem se observado maior número de óbitos de indivíduos do sexo masculino afetados pela HAC.

Referências Bibliográficas

AL-MAGHRIBI, H. Congenital adrenal hyperplasia: problems with developmental anomalies of the external genitalia and sex assignment. *Saudi Journal of Kidney Disease and Transplantation*, vol 18, nº 3, p. 405-413, 2007.

ALMEIDA, A.de.M.; GODINHO, T.M.; TELES, M.S.; REHEM, A.P.P.; JALIL, H.M.; FUKUDA, T.G.; ARAÚJO, E.P.; MATOS, E.C.; MURITIBA JÚNIOR, D.C.; DIAS, C.P.F.; PIMENTEL, H.M.; FONTES, M.I.M.M.; ACOSTA, A.X. Avaliação do programa de triagem neonatal na Bahia no ano de 2003. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil*, vol 6, nº 1, p. 85-91, 2006.

ANDRADE, J.G.R.de.; MARTINS, R.R.S.; CALDAS, D.; BRASIL, J.; MEIRIÑO, A.L.A.; JUNG, M.de.P. Perfil clínico de 62 casos de distúrbios da diferenciação sexual. *Revista Paulista de Pediatria*, vol 26, nº 4, p. 321-328, 2008.

AYALA, A. R., Antagonistas do Hormônio Liberador da Corticotrofina: Atualização e Perspectivas. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, vol 46 nº, p.619-625, 2002.

BACHEGA, T.A.S.S.; MADUREIRA, G.; BRENHA, E.M.L.; UETI, R.C.; INÁCIO, M.; DÊNIS, F.T.; SILVA, F.A.Q.; ARNHOLD, I.J.P.; MENDONÇA, B.B. Tratamento da hiperplasia supra-renal congênita por deficiência da 21-hidroxilase. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, vol45, nº 1, p. 62-72, 2001.

BENTO, L. R. Hiperplasia adrenal congênita por deficiência da 21-hidroxilase, forma clássica: estudo da frequência em famílias de indivíduos afetados. *Revista Paulista de Pediatria*, vol 25, nº3, p. 202-206, 2007.

BIBI, Z.; Role of cytochrome P450 in drug interactions. *Nutrition & Metabolism*, vol 5, nº 27, 2008.

BRUNHARA, F.C.R.; PETEAN, E.B.L. Hiperplasia congênita de supra-renal: a compreensão do diagnóstico e implicações para auto-imagem. *Medicina, Ribeirão Preto*, vol 36, p. 45-53, 2003.

CARDOSO, C.B.M.A.; FONSECA, A.A.; OLIVEIRA, M.de.F.S.; PEREIRA, B.B.; GUIMARÃES, M.M. Triagem neonatal para hiperplasia adrenal congênita: experiência do Estado do Rio de Janeiro. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, vol 49, nº 1, p. 112-119, 2005.

CASTRO, A.M.S. A importância dos aspectos éticos e psicológico na abordagem do intersexo. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, vol 49, nº 1, p. 46-59, 2005.

CONCOLINO, P.; MELLO, E.; ZUPI, C.; CAPOLUONGO, E. Molecular diagnosis of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency: an update of new

CYP21A2 mutations. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Journal*, vol 48, nº 8, p. 157-1062, 2010.

CRIDI. Centro de Reabilitação Imunização e Diagnóstico. Disponível em: http://www.cridi.com.br/principal.php?xvar=puericultura_testepezinho. Acesso em: 22 nov. 2011.

DAMIANI, D.; DICHTCHEKENIAN, V; SETIAN, N. As ambiguidades genitáias. *Revista Paulista de Pediatria* , vol 8, p.75-81, 1986.

DAMIANI, D.; SETIAN, N.; KUPERMAN, H.; MANNA, T.D.; DICHTCHEKENIAN, V. Genitália ambígua: diagnóstico diferencial e conduta. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia* ,vol 45, nº 1, p.37-47, 2001.

DANISH, R. K.; Intersex problems in the neonate. *The Indian Journal of Pediatrics*, vol 49, nº 399, p. 555-575, 1982

DAUBER, A.; KELLOG, M.; MAJZOUN, J.A. Monitoring of therapy in congenital adrenal hyperplasia. *Clinical Chemistry*, vol 56, nº 8, p. 1245-1251, 2010.

CONTEXTO DOS DUCTOS E TÚBULOS MESONÉFRICOS PARAMESONÉFRICOS E GÔNADAS. Disponível em: <http://dc118.4shared.com/doc/JbEVRouM/preview009.png>. Acesso em: 29 nov. 2011.

DOMENICE, S.; COSTA, E.M.F.; CORRÊA, R.V.; MENDONÇA, B.B. Aspectos moleculares da determinação e diferenciação sexual. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, vol 46, nº 4, p. 433-443, 2002.

ELIAS, L.K.; CASTRO, M.de. Diagnóstico da forma não clássica da deficiência de 21-hidroxilase. Redefinição de critérios após estudos moleculares?. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, vol 47, nº 5, p. 511-513, 2003.

ERDOGAN, S.; KARA, C.; UÇAKTÜRK, A.; AYDIN, M. Etiological Classification and clinical assessment of children and adolescents with disorders of sex development. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*, vol 3, nº 2, p. 77-83, 2011.

FARIA JÚNIOR, J.A.D.; SAMPAIO, D.S.; OLIVEIRA, L.M.B.; LAGO, R.; SILVA, C.N.; CANGUÇU-CAMPINHO, A.K.; SCHLEU, M.; TORALLES, M.B.P. Novas perspectivas no tratamento da hiperplasia adrenal congênita. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, vol 9, nº 3, p. 257-262, 2010.

FITNESS, J.; DIXIT, N.; WEBSTER, D.; TORRESANI, T.; PERGOLIZZI, R.; SPEISER, P.W.; DAY, D.J. Genotyping of CYP21, linked chromosome 6p markers, and a sex-specific gene in neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. *Journal of clinical Endocrinology and Metabolism*, vol 84, nº 3, p. 960-966, 1999.

GADELHA, M. M.; Hiperplasia adrenal congênita: Revisão e perfil dos pacientes do serviço de endocrinologia pediátrica do HRAS/SES/DF. 30 f. Dissertação (monografia) – Residência Médica em pediatria no HRAS/SES/DF. 2003.

GONZÁLEZ, N.M.; RODRÍGUEZ, O.Z.; REYES, E.C.G.; FERNÁNDEZ, G.M.; MORÁS, P.L.P.; RODRÍGUES, A.M. Obtención de conjugados 17 α -hidroxiprogesterona/ fosfatada alcalina para su empleo em El diagnóstico de hiperplasia adrenal congênita. Revista CENIC Ciências Biológicas, vol 34, n° 1, p. 23-28, 2003.

GREEN, N.S.; DOLAN, S.M.; MURRAY, T.H. Newborn screening: complexities in universal genetic testing. American Journal of Public Health, vol 96, n° 11, p. 1955-1959, 2006.

GUERRA, G.J; GUERRA, A.T.M. Menino ou menina? Os distúrbios da diferenciação do sexo. Editora Manole Ltda, 328p. 2002.

GUERRA, G.J; GUERRA, A.T.M. O pediatra frente a uma criança com ambiguidade genital. Jornal de Pediatria, vol. 83, n° 5, 184-191, 2007.

HUGHES, I.A. Minireview: sex differentiation. Endocrinology, vol 142, n°8, p. 3281–3287, 2001.

JANZEN, M.; PETER, M.; SANDER, S.; STEUERWALD, U.; TERHARDT, M.; HOLTkamp, U. SANDER, J. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, vol 92, n° 7, p. 2581-2589, 2007.

KIM, J.; PRAWITT, D.; BARDEESY, N.; TORBAN, E.; VICANER, C.; GOODYER, P.; ZABEL, B.; PELLETIER, J. The Wilms' Tumor Suppressor Gene (*wil1*) Product Regulates *Dax-1* Gene Expression during Gonadal Differentiation. Molecular and Cellular Biology, vol 19, n° 3, p. 2289–2299, 1999.

KRONE, N.; ARLT, W.; Genetics of congenital adrenal hyperplasia, Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism, vol 23, p.181-192, 2009.

LAJIC, S.; WEDELL, A.; BUI, T.H.; RITZE´N, E.M.; HOLST, M. Long-term somatic follow-up of prenatally treated children with congenital adrenal hyperplasia. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, vol 83, n° 11, p. 3872-3880, 1998.

LEE, H.H.; MEIKUO,J.; CHAO, H.T.; LEE, Y.J.; CHANG,J.G.; TSAI, C.H.; CHUNG, B.C. Carrier analysis and prenatal diagnosis of congenital adrenal hyperplasia caused by 21-hidroxilase deficiency in Chinese. Journal of clinical Endocrinology & Metabolism, vol 85, n° 2, p. 597-600, 2000.

LEE, P.A.; HOUK, C.P.; AHMED, S.F.; HUGHES, I.A. Consensus statement on management of intersex disorders. Pediatrics, vol 118, p. 488-500, 2006.

LEVINE, L.S. Congenital Adrenal hyperplasia. *Pediatrics in review*, vol 21, nº5, p. 159-171, 2000.

LIMA, C.A.; MONTEIRO, D.L.M.; SOUSA, W.R.de; Hiperplasia congênita de suprarrenal por deficiência de 21-hidroxilase: relato de caso. *Adolescência & Saúde*, vol 6, nº4, p. 53-60, 2009.

LISÁ, L.; Congenital adrenal hyperplasia and the function of adrenal medulla, *Hormone Molecular Biology & Clinical Investigation*, vol 2, nº 2, p. 245-248, 2010.

LOPES, A.C. Diagnóstico e tratamento. Editora Manole Ltda, 1774p. 2007.

MARGOTTO, P.R.; Hiperplasia congênita da supra – renal. In: MARGOTTO, P.R. (Pórfiro). *Assistência ao Recém-Nascido de Risco*, 2004.

MELLO, M.P.de.; ASSUMPCÃO, J.de.G.; HACKEL, C. Genes envolvidos na determinação e diferenciação do sexo. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, vol 49, nº 1, 2004.

MELLO, M.P.de.; BACHEGA, T.A.S.S.; SANTOS, M.da.C.; MERMEJO, L.M.; CASTRO, M.de. Bases moleculares da hiperplasia adrenal congênita. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, vol46, nº 4, p.457-477, 2002.

MIGEON, C.J.; WISNIEWSKI, A.B. Human sex differentiation and its abnormalities. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, vol. 17, nº 1, p. 1–18, 2003.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS). Portaria GM/MS n. 822/ GM em 6 de junho de 2001. Instituir, no âmbito do Sistema Único de Saúde, o Programa Nacional de Triagem Neonatal / PNTN. 2001.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS). Portaria Nº 16 em 15 de Janeiro de 2010. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas- Hiperplasia Adrenal Congênita. 2010.

MINOTOLO, C.; NADRA, A. D.; FERNÁNDEZ, C.; TABOAS, M.; BUZZALINO, N.; CASALI, B.; BELLI, S.; CHARREAU, E. H; ALBA, L.; DAIN, L. Structure-base analysis of Five novel disease-causing mutations in 21-hydroxylase-deficient patients. *Journal Plos One*, vol 6, 2011.

NEW, M.I; WILSON, R.C. Steroid disorders in children: congenital adrenal hyperplasia and apparent mineralocorticoid excess. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*, vol 96, nº 22, p. 12790- 12797, 1999.

NIMKARN, S.; NEW, M.I. Prenatal diagnosis and treatment of cangenital adrenal hyperplasia owing to 21-hydroxylase deficiency. *Nature Clinical Practice*, vol 3, nº 5, p. 405-413, 2007.

ÖÇAL, G. Current Concepts in Disorders of Sexual Development. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*, vol 3, n° 3, p.105-114, 2011.

QUEST DIAGNOSTICS. Disponível em: <http://www.questdiagnostics.com>. Acesso em: 28 nov. 2011.

REISCH, N.; ARLT, W.; KRONE, N. Health problems in congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Hormone Research in Paediatrics*, vol 76, p. 73-85, 2011.

RODRIGUES, R. Determinação sexual e diferenciação sexual no embrião e no feto. 10 f. Seminário (Pós-graduação) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2004.

SBTN. Sociedade Brasileira de Triagem Neonatal. Disponível em: <http://www.sbtn.org.br>. Acesso em: 22 nov. 2011.

SCHLESSINGER, D.; ORTIZ, J.E.G.; FORABOSCO, A.; UDA, M.; CRISPONI, L.; PELOSI, E. Determination and stability of gonadal sex. *Journal of Andrology*, vol. 31, n° 1, p. 16-65, 2010.

SPEISER, P.W.; Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21-hydroxylase deficiency: An endocrine society clinical practice guideline. *Journal of clinical Endocrinology & Metabolism*, vol 95, n° 9, p. 4133-4160, 2010.

VARGAS, V.M.A.; KURDIAN, M.C. Hiperplasia congênita de supra – renal forma não clássica – relato de casos. *Revista Médica*, vol 36, n° 2, 2002.