

HIPERPLASIA CONGÊNITA DE SUPRARRENAL NO TESTE DO PEZINHO

CONGENITAL ADRENAL HYPERPLASIA IN THE NEWBORN SCREENING

PAULA SILVA¹, LUIZ FELIPE SOUZA GUEDES², ANALINA FURTADO VALADÃO^{3*}, PATRÍCIA GONÇALVES DA MOTTA⁴, JAQUELINE MELO SOARES⁵

1. Acadêmica do curso de Medicina do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/IMES - Univaço, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil; 2. Acadêmico do curso de Medicina do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/IMES - Univaço, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil; 3. Bioquímica. Doutora pela Universidade Federal de Minas Gerais. Docente do curso de Medicina do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/ IMES - Univaço, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil; 4. Dentista. Doutora pela Universidade Federal de Minas Gerais. Docente do curso de Medicina do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/ IMES - Univaço, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil; 5. Médica Veterinária. Doutora pela Universidade Federal de Minas Gerais. Docente do curso de Medicina do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/ IMES - Univaço, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil.

* Rua Uruguai, 86, Cariru, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil. CEP: 35160-143. analina@famevaco.br

Recebido em 07/08/2014. Aceito para publicação em 19/08/2014

RESUMO

A triagem neonatal para Hiperplasia Congênita da Suprarrenal (HCSR) reduz complicações clínicas e sociais graves para os portadores, como as crises agudas de perda de sal e até mesmo os registros civis incorretos de crianças do sexo feminino. Contribui significativamente com a redução do intervalo entre o diagnóstico e o início do tratamento de crianças afetadas pela doença, diminuindo a morbimortalidade. A HCSR por deficiência da enzima D21-OH é considerada doença elegível para ser incluída nos programas de triagem neonatal, é relativamente frequente, potencialmente fatal na infância e facilmente triada. O objetivo do presente estudo foi avaliar o número de casos positivos e falso positivos para HCSR provenientes do projeto-piloto para hiperplasia adrenal congênita, do Programa de Triagem Neonatal realizado nos postos de saúde no município de Ipatinga. De setembro de 2007 a abril 2008 o município de Ipatinga registrou 2108 nascidos vivos. Desse total, dez (0,47%) apresentaram valor de 17-OHP superior ao ponto de corte estabelecido na primeira amostra em papel-filtro, sendo que três pacientes eram do sexo feminino. Depois de triados os pacientes foram acompanhados clinicamente para prognóstico e evolução do quadro, sendo que os dez pacientes com triagem inicial positiva para HCSR não apresentaram, comprovadamente, manifestações clínicas ou laboratoriais da patologia em estudo. Independentemente do resultado a implantação de qualquer método de triagem para HCSR é válido, pois salva vidas e possibilita um acompanhamento com suporte terapêutico adequado à necessidade de cada paciente.

PALAVRAS-CHAVE: Hiperplasia suprarrenal congênita, triagem neonatal, diagnóstico precoce.

ABSTRACT

Neonatal screening of Congenital Adrenal Hyperplasia (CAH) decreases serious medical and social complications for patients, as acute exacerbations of salt loss and even incorrect civil records of female children. It contributes significantly to the reduction of the interval between diagnosis and early treatment of children affected by the disease, reducing the morbidity and mortality. The CAH deficiency of D21-OH enzyme is considered eligible for inclusion in newborn screening programs. The disease is relatively common, potentially fatal in infancy and easily screened. The aim of this study was to evaluate the number of positive and false positive cases in the CAH pilot project for congenital adrenal hyperplasia, from Newborn Screening Program conducted at clinics in Ipatinga. From September 2007 to April 2008, Ipatinga recorded 2108 live births. Of this total, ten (0.47%) exceeded the 17-OHP cutoff values established in the first sample on filter paper, and three of them were female. After screened, patients were clinically followed for prognosis and progression. The ten patients with positive initial screening for CAH did not show, clinical or laboratory manifestations of the disease under study. Regardless of the outcome, the implementation of any method of screening for CAH is valid because it saves lives and enables monitoring with appropriate therapeutic support the needs of each patient.

KEYWORDS: Congenital adrenal hyperplasia, neonatal screening, early diagnosis.

1. INTRODUÇÃO

O avanço dos recursos diagnósticos na Medicina tornou possível o rastreamento precoce e efetivo de inúmeras doenças congênitas que acometem o ser humano. Neste contexto, a triagem neonatal é um importante recurso que teve início no começo da década de 1960, por Guthrie ao desenvolver uma técnica para o

diagnóstico da Fenilcetonúria¹. No Brasil, a triagem neonatal, foi implantada na década de 70, para identificar duas doenças: a Fenilcetonúria (FNC) e o Hipotireoidismo Congênito (HC)². Em 2001, o Ministério da Saúde criou o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) através da portaria 822 de 6 junho de 2001, com o objetivo de atender a todos os recém-natos em território brasileiro^{3,4}. Nas políticas de triagem neonatal da rede pública de saúde, o PNTN é popularmente conhecido como “Teste do Pezinho”, e é capaz de detectar precocemente casos suspeitos de quatro doenças, conforme as fases de implantação. A implantação do programa deve ocorrer em três fases, de acordo com o nível de organização e de cobertura de cada Estado da Federação. As fases com suas respectivas patologias contempladas são: Fase I - hipotireoidismo congênito e fenilcetonúria; Fase II - hipotireoidismo congênito, fenilcetonúria e hemoglobinopatias; e Fase III - hipotireoidismo congênito, fenilcetonúria, hemoglobinopatias e fibrose cística³.

Atualmente, a maioria dos Estados da Federação ainda encontra-se na fase I da implantação dos testes de triagem, e poucos estados estão na fase III tais como Minas Gerais, Santa Catarina, Paraná e Espírito Santo. Em alguns estados brasileiros a ideia de expansão do “Teste do Pezinho” já foi viabilizada, com a publicação da Portaria Nº 2.829 de 14 de dezembro de 2012 do Ministério da Saúde que determina no Art.1º a instituição da Fase IV no Programa Nacional de Triagem Neonatal que inclui a triagem neonatal para hiperplasia adrenal congênita e deficiência da biotinidase. Outras patologias de relevância ímpar, tais como: aminoacidopatias, galactosemia, toxoplasmose congênita estão em estudo de viabilidade de inclusão⁵.

A hiperplasia congênita da suprarrenal (HCSR) é uma síndrome caracterizada por um conjunto de erros inatos da esteroidogênese. Caracteriza-se por um grupo de doenças de herança autossômica recessiva, determinadas por expressão deficiente das proteínas envolvidas na biossíntese do cortisol, como as enzimas 21-hidroxilase (21-OH), a 11β-hidroxilase (11βOH), a 3β-hidroxiesteroide desidrogenase (3βHSD), a 17-hidroxilase (17α-OH) e a proteína StAR (*steroidogenic acute regulatory protein*) (CORONHO et al., 2001; LIFSHITZ, 2007). As inúmeras formas de apresentação da síndrome dependem do complexo enzimático envolvido, do grau de severidade da deficiência da proteína e do consequente comprometimento gonadal, desenvolvendo apresentações clínicas e bioquímicas bastante distintas. Mais de 90% dos casos de HCSR ocorrem devido a um defeito na 21-hidroxilase (21-OH), causada por mutações no gene CYP21A2, levando a diminuição na produção de cortisol e aldosterona. A deficiência da enzima 11β-hidroxilase é a segunda maior causa (5% a 8%) e as demais formas causadoras apresentam uma preva-

lência muito baixa^{6,7,8}.

A enzima 21-hidroxilase participa da síntese de glico e mineralocorticoides, catalisando a conversão de 17-OHP em 11-deoxicortisol, um precursor do cortisol, e a conversão de progesterona em deoxicorticosterona, um precursor da aldosterona. Com a disfunção enzimática, os pacientes não conseguem sintetizar cortisol de forma eficiente, levando a aumento compensatório, por mecanismo de *feedback*, da produção de hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pelo hipotálamo e hipófise, respectivamente. O aumento de ACTH estimula a produção excessiva de precursores do cortisol, anteriores ao bloqueio enzimático e subprodução dos metabólitos pós-bloqueio e consequente desvio na produção hormonal levando à hiperplasia do córtex adrenal. Esses precursores em excesso são desviados para a produção de hormônios sexuais tais como androstenediona e testosterona com consequente virilização de recém-nascidos do sexo feminino (genitália ambígua) e crescimento pós-natal acelerado em ambos os sexos. Além disso, nos casos de deficiência enzimática grave, há deficiência concomitante de aldosterona com crises de perda de sal nas primeiras semanas de vida (desidratação, hiponatremia, hipercalemia e choque).

A dosagem da 17-OHP no “Teste do Pezinho” visa, primordialmente, o diagnóstico precoce da forma perdedora de sal, mais grave e lesiva, o acúmulo desse metabólito, que ocorre pela deficiência da 21-OH. O que se observa, contudo, é que elevações desse metabólito podem ocorrer em recém-nascidos sem HCSR, em situações de estresse por fatores maternos ou neonatais. Os prematuros sem HCSR também podem apresentar elevados níveis de 17OHP à triagem, decorrentes de maiores concentrações de esteroides conjugados e relativa imaturidade renal com função excretora insuficiente^{9,10,11}.

Diante do exposto o objetivo do presente estudo foi avaliar o número de casos positivos e falso positivos para HCSR provenientes do projeto-piloto para hiperplasia adrenal congênita, do Programa de Triagem Neonatal realizado nos postos de saúde no município de Ipatinga.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Estudo de caráter descritivo com delineamento transversal baseado no banco de dados do município de Ipatinga, Minas Gerais gerado por resultados fornecidos pelo Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (NUPAD). A casuística compreendeu uma população de 2108 recém-nascidos avaliados no período de setembro de 2007 a abril de 2008. Os dados foram obtidos de relatórios fornecidos pela Vigilância Epidemiológica do município.

Foram analisados: número de crianças nascidas vivas no município neste período; valores da dosagem de 17 OHP sérica – pelo método de radioimunoensaio -, idade neonatal de realização do exame; valor das concentrações de androstenediona e testosterona - pelo método de quimioluminescência-; número de indivíduos triados positivamente para HCSR; prevalência da mesma em relação ao sexo das crianças e análise das fichas de acompanhamento clínico.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana - CEP/Unileste MG, na reunião do dia 03/10/2011 (protocolo número 49.284.11).

3. RESULTADOS

De setembro de 2007 a abril 2008 o município de Ipatinga registrou 2108 nascidos vivos. Desse total, dez (0,47%) apresentaram valor de 17-OHP superior ao ponto de corte estabelecido na primeira amostra em papel-filtro. Destes, três (30%) são do sexo feminino e sete (70%) do sexo masculino. A mediana da idade à triagem foi de cento e setenta dias de vida.

A mediana dos níveis séricos de 17-OHP dos pacientes com triagem para HCSR foi de 796,5 ng/dL, já os valores da androstenediona sérica revelaram mediana de 0,85 ng/dL. A mediana da testosterona sérica foi de 1,17 ng/mL, sendo que entre os meninos foi de 1,226 ng/mL e entre as meninas, de 0,78 ng/mL, conforme evidenciado na tabela 1. Alguns pacientes não apresentaram androstenediona e testosterona alteradas.

Tabela 1. Principais características dos pacientes triados para HCSR

Paciente	Sexo	Idade à triagem (dias)	17 OHP ng/mL	Androstenediona ng/mL	Testosterona ng/mL
1	F	202	89,2*	0,30	0,02
2	F	185	59,9*	1,00	0,09
3	F	227	31,7*	0,70	1,17*
4	F	43	388,0*	37,0*	1,85*
5	M	183	80,9*	0,70	1,33
6	M	150	77,7*	0,40	0,81
7	M	66	191,0*	1,90*	1,94
8	M	68	270,0*	2,90*	0,34
9	M	549	10,3	0,30	-
10	M	420	6,2	1,10	1,71

* Valores acima dos de referência

Com base nos resultados os dez pacientes foram inicialmente considerados como positivos e acompanhados clínica e laboratorialmente para prognóstico e evolução do quadro. A avaliação clínica incluiu dados do peso e da altura (desenvolvimento pondero-estatural), os sinais de virilização, o estado de hidratação e o desenvolvimento neuro-psicomotor (DNPM). Foi identificado um paciente pré-termo (paciente 3) com dezoito meses de idade do gênero feminino apresentando baixo peso, sem

sinais de virilização, com alterações na hidratação, atraso no desenvolvimento pondero-estatural e no DNPM.

Ao final das avaliações nenhum dos pacientes apresentou, comprovadamente, manifestações clínicas ou laboratoriais da patologia em estudo e desta forma receberam alta do programa e foram classificados como falso-positivos. Houve predominância do sexo masculino (60%) entre os casos falso-positivos acompanhados.

4. DISCUSSÃO

A triagem neonatal para HCSR ainda não é aceita de maneira universal e existe polêmica em vários países sobre incluí-la ou não nos programas de triagem. Entretanto, essa polêmica não é exclusiva da HCSR e abrange outras patologias. As doenças triadas em cada país, ou mesmo nas diversas regiões ou estados de um mesmo país, variam muito, dependendo das decisões políticas de saúde baseadas em aspectos epidemiológicos, étnicos, sociais, econômicos e éticos¹². Na triagem para HCSR a alta concentração sérica de 17-OHP encontrada nos pacientes pode ser decorrente do processo de esteroidogênese da suprarrenal quando há redução da atividade da 21-OH associado à diminuição da síntese de cortisol, ocorrendo uma estimulação crônica do córtex adrenal pelo hormônio adrenocorticotrófico, ACTH, que em casos crônicos pode acarretar uma hiperplasia da adrenal e superprodução dos precursores do cortisol e elevação da 17-OHP¹³.

A literatura descreve algumas condições que poderiam explicar essa diferença na elevação de níveis séricos de 17-OHP entre os pacientes. Quando há deficiência na enzima 21-OH, os níveis séricos de 17-OHP são elevados ao nascimento, mas é esperada a queda da concentração nos primeiros dias de vida, pois a fonte placentária de andrógeno para a produção de estrogênio foi retirada. Porém à medida que a criança afetada se desenvolve a concentração enzimática volta a aumentar em quadros patológicos, por processo de retroalimentação dessa via^{10,11}.

Segundo Pezutti¹³, a triagem neonatal para HCSR deve ser realizada no terceiro dia de vida, pois a idade do recém-nascido interfere diretamente na dosagem sérica de 17-OHP. Deve-se levar em consideração que os métodos que se baseiam em marcadores imunológicos superestimam as concentrações de 17-OHP devido à baixa especificidade dos anticorpos, que são utilizados no diagnóstico da HCSR, sendo mais incidente em neonatos que apresentam adrenal fetal que pode resultar em reação cruzada com seus produtos, podendo assim resultar em concentrações hormonais diferentes das conhecidas.

Outro fator que pode contribuir com o achado das elevadas concentrações da 17-OHP, pode ser influência de reação cruzada, são elevadas as dosagens de esteroides sulfonados como o sulfato de 17-OH-pregnenolona,

que é o composto de maior interferência nos testes de radioimunoensaios, pois estruturalmente os esteroides sulfonados são semelhantes a 17-OHP e encontrados em abundância no plasma do recém-nascido. Compostos como a progesterona e o cortisol também podem desencadear reação cruzada com esta enzima^{9,14}.

Nossos dados mostram que todos os pacientes foram avaliados em média com cento e setenta dias de nascidos, tempo superior ao preconizado o que pode inclusive ter influenciado os resultados. Porém considerando que a concentração de 17-OHP tende a diminuir após o nascimento, os altos níveis séricos encontrados poderiam sugerir casos positivos para HCSR. A não confirmação dos casos pode ser atribuída a uma baixa adesão ao acompanhamento clínico e laboratorial e uma baixa acurácia dos exames.

Nos dados colhidos, dos dez pacientes com a dosagem de 17-OHP elevada, apenas em três casos o processo de esteroidogênese seguiu a via androgênica, ou seja, houve conversão para androstenediona, resultando na elevação dos níveis plasmáticos de testosterona. A testosterona e a androstenediona são androgênicos que frequentemente aparecem em concentrações elevadas nos portadores de HCSR. Porém, esses hormônios não são bons marcadores da atividade da D21OH, por apresentarem alta afinidade à albumina sérica e possuir consequentemente meia vida plasmática longa, também não respondem bem a estimulação aguda de ACTH⁹ pois este hormônio tem seu ciclo pulsátil de padrão circadiano^{15,16}, assim, a amostra coletada pode não ser representativa da concentração real de D21OH, isso explicaria a ausência de elevação das concentrações séricas de andrógenos em alguns pacientes triados.

A hiperplasia da glândula suprarrenal é caracterizada pela inadequada síntese de seus produtos, que resultam em uma maior conversão da esteroidogênese com desvio positivo para a síntese dos esteroides sexuais, principalmente da androstenediona que possibilita a virilização do recém-nascido do sexo feminino e crescimento acelerado após o nascimento de bebês de ambos os sexos, entretanto nenhum dos casos apresentados apresentaram modificação em seus caracteres sexuais. Em casos mais graves, há deficiência concomitante de aldosterona com consequentes crises de perda de sal, levando o paciente a apresentar clinicamente desidratação, hiponatremia, hipercalemia e choque hipovolêmico¹⁴, sendo que as alterações em íons plasmáticos não foram observadas em nenhum dos pacientes acompanhados após triagem positiva para HCSR.

No presente estudo, apenas um paciente apresentou manifestações fenotípicas compatíveis com o quadro de HCSR, supracitados. De acordo com a literatura¹³, as alterações clínicas podem correlacionar com a mutação no gene CYP21A2 e consequentemente com o grau de deficiência da enzima 21-OH, porém deve ser levado em

consideração que o paciente acima se trata de um recém-nascido pré-termo, assim o mesmo poderá apresentar atraso no desenvolvimento e/ou modificações fenotípicas que se assemelham ao portador. A maioria dos pacientes não apresentou alterações clínicas perceptíveis, que poderiam ser justificadas geneticamente por pequenas deleções que não prejudicariam a produção adequada da enzima 21-OH e mantêm ativa a produção de cortisol e aldosterona, impossibilitando o desvio de precursores hormonais para a produção de esteroides.

Para o entendimento da genética molecular da HCSR, alguns estudos relatam que a maioria dos pacientes apresenta a forma heterozigota, o que contribui para o aumento do espectro dos fenótipos apresentados. Esses fenótipos relacionam-se com o alelo de maior atividade residual enzimática, ou seja, aquele que possui a mutação menos significativa¹⁷. Na forma clássica, por exemplo, as alterações genéticas mais frequentemente encontradas nos alelos são grandes deleções no gene CYP21A2 e mutação do tipo *splice* no íntron 2 do mesmo gene o que leva a ablação total da enzima 21-OH¹⁷. Cerca de 70% dos alelos mutantes da forma não clássica ou tardia apresentam mutação de ponto no exon 7 que preserva de 20% a 50% da função enzimática¹⁸. As alterações referenciadas poderiam justificar indivíduos portadores de HCSR apresentarem sinais de hiperandrogenismo na infância, forma clássica, ou somente na fase adulta, forma não clássica, o que resulta em quadros clínicos extremamente variados.

Mesmo que sejam levadas em consideração algumas possibilidades de falha no diagnóstico, como nos casos de alta concentração de andrógeno placentário no neonato, coleta tardia de amostra, reação cruzada, baixa especificidade do marcador e outros produtos circulantes é necessário que haja uma ampla discussão a respeito da inclusão da HCSR nos programas de triagem neonatal, pois há questionamento sobre os custos dessa inclusão e o verdadeiro impacto ao avaliar indivíduos falso-positivos. Mas não se deve invalidar os benefícios oferecidos pelo diagnóstico precoce, principalmente nos pacientes que apresentam complicações mais graves.

Em 14 de dezembro de 2012, a Portaria nº 2.829, incluiu a fase IV no PNTN instituído pela Portaria nº 822/GM/MS, de 6 de junho de 2001. A fase IV, a mais avançada do programa, passou a incluir duas novas patologias, além daquelas triadas na fase III, a hiperplasia congênita de suprarrenal e a deficiência de biotinidase, isso deve repercutir com resultados mais acurados e tratamento adequado. As triagens realizadas para HCSR que resultaram nos dados apresentados, não têm uma casuística homogênea, a justificativa pode estar associada à dosagem de 17 OHP que foi realizada em idades variáveis, 30 a 547 dias de vida dos pacientes, períodos considerados tardios. A inclusão desta patologia no PNTN resultará em maior confiabilidade nos resultados,

pois a coleta de amostra passa a ser realizada em momento padronizado, ações do terceiro ou do quinto dia de vida.

Como forma de rastreamento neonatal através do “Teste do Pezinho” a dosagem da 17-OH-progesterona, utilizada no presente estudo, não se mostrou eficaz para detecção precoce de crianças possivelmente acometidas por HCSR, sendo que nenhum dos pacientes triados foi comprovadamente diagnosticado com a doença. Pelos dados obtidos através do teste-piloto não há evidencia clara dos benefícios advindos do diagnóstico precoce através dos testes realizados. A implantação global da triagem para HCSR deve ocorrer, porém devemos questionar sobre o método utilizado. Outros métodos estão sendo estudados e questionados em relação à especificidade, o custo-benefício e outros parâmetros que contribuam para uma triagem com menor possibilidade de falha.

5. CONCLUSÃO

A implantação de qualquer método de triagem para HCSR é válido, pois o diagnóstico clínico precoce é bastante deficiente, assim sendo a triagem salva vidas e possibilita um acompanhamento com suporte terapêutico adequado à necessidade de cada paciente, principalmente em relação às complicações graves como a crise de perda de sal e o registro civil incorreto de meninas. É importante ressaltar que a triagem do neonato reduz significativamente o tempo de atendimento das crianças acometidas pela doença, diminuindo a morbimortalidade.

REFERÊNCIAS

- [1] Cardoso CBMA, Fonseca AA, Oliveira MFS, Pereira BB, Guimarães MM. Triagem neonatal para hiperplasia adrenal congênita: experiência do estado do Rio de Janeiro. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2005; 49(1):112-9.
- [2] Mattozo M, Souza LC. Triagem Neonatal em Santa Catarina: relato histórico, aspectos fisiopatológicos e métodos de análise realizados pelo Laboratório Central da Secretaria de Saúde do Estado. 68ª ed. Florianópolis: NewsLab; 2005.
- [3] Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada. Manual de normas técnicas e rotinas operacionais do programa nacional de triagem neonatal / Brasil. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.
- [4] Vespoli S, Marques M, Marane SSG, Santos VF, Chung MC1; Santos JL. Análise das prevalências de doenças detectadas pelo programa nacional de triagem neonatal no município de Araraquara no ano de 2009, *Rev Ciênc Farm Básica Apl.* 2011; 32(2):269-273.
- [5] Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.829, de 14 de dezembro de 2012. Inclui a Fase IV no Programa Nacional de Triagem Neonatal, instituído pela Portaria nº 822/GM/MS, de 6 de junho de 2001. Brasília DF, 2012.
- [6] Coronho V, Petroianu A, Santana EM, Pimenta LG. Tratado de endocrinologia e cirurgia endócrina. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.
- [7] Pasqualini T, Alonso G, Tomasini R, Galich AM, Buzzalino N, Fernandez C, et al. Congenital adrenal hyperplasia: clinical characteristics and genotype in newborn, childhood and adolescence. *Medicina.* 2007; 67:253-61.
- [8] Lifshitz F. *Pediatric Endocrinology.* 5ª ed. New York: Informa Health Care; 2007.
- [9] Schechtman HP. Hiperplasia adrenal congênita - Revisão de literatura. Monografia [Especialista em Pediatria] - Secretaria de Estado do Governo do Distrito Federal, Hospital Regional da Asa Sul; 2007.
- [10] Ballerini MG, Chiesa A, Scaglia P, Gruñeiro-Papendieck L, Heinrich JJ, Ropelato MG. 17alpha-hydroxyprogesterone and cortisol serum in neonates and young children: influence of age, gender and methodological procedures. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2010; 23:121-32.
- [11] Barral CB, Silva IN, Pezzutti IL, Januário JN. Triagem neonatal para hiperplasia adrenal congênita. *Rev Assoc Med Bras.* 2012; 58(4):459-64.
- [12] Leão LL, Aguiar MJ. Newborn screening: what pediatricians should know. *J Pediatr.* 2008; 84(4 Suppl):S80-90.
- [13] Pezzutti IL. Avaliação do projeto-piloto de triagem neonatal para Hiperplasia Adrenal Congênita no Estado de Minas Gerais. Belo Horizonte. Dissertação [Mestrado em Pediatria] - Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina; 2010.
- [14] Speiser PW, White PC. Congenital adrenal hyperplasia. *N Engl J Med.* 200; 349(8):776-88.
- [15] Halbrecht U, Asnis GM, Zumoff B, Nathan S, Shindler R. Effects of age and sex on cortisol secretions in depressive and normals. *Psychiatry Res.* 1984; 13:221-29.
- [16] Simpson EEA, McConville C, Rae G, O'Connor JM, Sewarthon BJ, Coudray C, et al. Salivary cortisol in healthy older adults: The Zenith study. *Biol Psychol.* 2008; 78:1-9.
- [17] Speiser PW, Dupont J, Zhu D, Serrat J, Buegeleisen M, Tusie-Luna MT, et al. Disease expression and molecular genotype in congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Invest.* 1992; 90(2):584-95.
- [18] Deneuve C, Tardy V, Dib A, Mornet E, Billaud L, Charon D. Phenotype/genotype correlation in 56 women with nonclassical congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86(1):207-13.

BJSCR