

Hipoplasia adrenal, hipogonadismo y talla baja por una nueva mutación del gen *DAX-1* (pGly168fsX17)

O. Pérez Rodríguez^a, J.L. Ruibal Francisco^a, L. Loidi Fernández de Trocóniz^c, S. Parajes Castro^c y P. Martín Rojas-Marcos^b

^aDepartamento de Pediatría. ^bServicio de Endocrinología. Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

^cUnidad de Medicina Molecular. Hospital Clínico Universitario. Santiago de Compostela. España.

Varios genes intervienen en la morfogénesis de la corteza suprarrenal, entre ellos el gen *DAX-1*. Presentamos una nueva mutación del gen *DAX-1* en un varón de 18 años que padeció fracaso suprarrenal completo en el período neonatal, hipogonadismo hipogonadotrofo y talla baja patológica.

Ingresó a los 16 días por presentar un síndrome pierde-sal con hiperpotasemia. Se mantuvo sin tratamiento hasta los 2 años, cuando comenzó progresivamente con anorexia, avidez por la sal, desmedro, hiperpigmentación cutánea y finalmente choque, hipoglucemia, hiponatremia, acidosis metabólica e hiperpotasemia.

Inició espontáneamente el desarrollo puberal, pero fue incompleto. Recibió tratamiento con testosterona-*depot*. El volumen testicular definitivo alcanzado fue de 6 ml con una pubarquía V. Su talla final ha sido 150 cm (talla diana 164 cm).

El estudio genético del gen *DAX-1* mostró la mutación g 2080-2081 ins a en la primera posición del codón 168, que produce una parada prematura de la proteína DAX en la posición 184.

Palabras clave:

Hipoplasia adrenal congénita. DAX-1. Hipogonadismo hipogonadotrofo. Mutación. Talla baja.

GENE AS A CAUSE OF ADRENAL HYPOPLASIA, HYPOGONADISM AND SHORT HEIGHT NOVEL MUTATION OF *DAX-1* GENE (PGLY168FSX17)

Various genes play a role in the morphogenesis of the adrenal cortex, among them the *DAX-1* gene. We report an 18-year-old man who showed complete adrenal failure in the neonatal period, hypogonadotropic hypogonadism and pathological short stature associated with a mutation of the *DAX-1* gene that has not previously been described.

The patient was admitted to hospital at the age of 16 days due to salt-losing syndrome with hyperpotasemia. After this episode, he received no treatment for 2 years, when he began to show progressive anorexia, salt avidity, asthenia, cutaneous hyperpigmentation and finally shock, with hypoglycemia, hyponatremia, metabolic acidosis and hyperpotasemia.

Puberal development was spontaneous but incomplete. The patient received treatment with testosterone-*depot*. He reached a definitive testicular volume of 6 ml and pubarche V. His final height is 150 cm (target height 164 cm).

Amplification of the *DAX-1* gene showed mutation g 2080-2081 insertion in the first position of codon 168, which produces a premature shutdown of protein DAX-1 at position 184.

Key words:

Congenital adrenal hypoplasia. DAX-1. Hypogonadotropic hypogonadism. Mutation. Short stature.

INTRODUCCIÓN

La hipoplasia adrenal congénita es un grupo de enfermedades que tienen en común el que las glándulas suprarrenales no se desarrollan correctamente durante el período embrionario. Se produce de manera esporádica, o con herencia autosómica recesiva o ligada a X, y con patrones histológicos en miniatura y citomegálico respectivamente¹.

La forma ligada a X afecta a los varones y ocasionalmente a las mujeres portadoras. Aunque el espectro clínico de estos pacientes es muy heterogéneo, la mayoría presenta un fracaso suprarrenal global primario desde el

Correspondencia: Dres. O. Pérez Rodríguez y J.L. Ruibal Francisco. Departamento de Pediatría. Hospital Clínico San Carlos. Prof. Martín Lagos, s/n. 28040 Madrid. España. Correo electrónico: olgaperezrodriguez@yahoo.es ruibaljl@yahoo.es

Recibido en octubre de 2005.

Aceptado para su publicación en marzo de 2006.

nacimiento, y al llegar a la pubertad presentan un hipogonadismo hipogonadotropo².

Esta forma se produce por mutaciones en el gen *DAX-1* denominado así por las siglas del inglés, *dosage-sensitive sex reverse*, oficialmente llamado *NROB1*. Se encuentra situado en Xp21 y codifica una proteína de 470 Aa, que es un miembro atípico de la familia de receptores nucleares huérfanos, que conserva el dominio de unión al ligando, pero que carece del motivo típico "dedos de cinc" de unión al ADN. No obstante, contiene 3 copias de una repetición de 67-69 aminoácidos que ha sido descrita como dominio de unión al ADN³. *DAX-1* actúa como un represor transcripcional de genes que intervienen en la esteroidogénesis, y se expresa en las glándulas adrenales, en las gónadas y en la región hipotálamo-hipofisaria⁴⁻⁹. Recientemente se ha identificado una isoforma de *DAX-1* producida por procesamiento alternativo del ARNm¹⁰.

La mayoría de las mutaciones descritas en el gen *DAX-1* son deleciones, mutaciones sin sentido, y mutaciones de cambio en la pauta de lectura con la aparición de codones de parada prematuros. También se han descrito un pequeño número de mutaciones de cambio de sentido que afectan fundamentalmente al extremo carboxiterminal de la proteína. En este trabajo hemos realizado el estudio del gen *DAX-1* en un paciente con hipoplasia adrenal congénita en quien se ha encontrado una mutación de cambio en la pauta de lectura no descrita anteriormente.

OBSERVACIÓN CLÍNICA

Se trata de un paciente sin antecedentes familiares de interés, cuya historia comienza en el período neonatal. Fue producto de un embarazo gemelar monocorial y monoamniótico, cuyo hermano gemelo pensamos que falleció de un fallo suprarrenal en el seno de la misma enfermedad que padece este paciente.

Ingresó a los 16 días de vida por presentar un cuadro de desmedro progresivo, pigmentación normal de piel, ausencia de macrogenitosomía, síndrome pierdesal, hiperpotasemia (K = 6,5-7,5 mEq/l) e hiponatremia (Na = 110 mEq/l). Fue tratado con aporte de líquidos y electrolitos, glucocorticoides y aportes continuos de sal. Se realizó un estudio de función suprarrenal en el que se descartó una hiperplasia suprarrenal congénita por déficit de 21-hidroxilasa, al no encontrarse elevadas las concentraciones de 17-OH-progesterona.

Se mantuvo con un estado de salud aceptable sin tratamiento hasta los 2 años de edad, en que comenzó con una sintomatología progresiva consistente en anorexia, avidez por la sal, desmedro, hiperpigmentación cutánea y, finalmente, un cuadro de choque, hipoglucemia, hiponatremia grave, acidosis metabólica e hiperpotasemia. Fue diagnosticado de insuficiencia suprarrenal global y tratado con líquidos y electrolitos y aportes de glucocorticoides y mineralocorticoides de manera permanente.

Para dilucidar la etiología de la insuficiencia suprarrenal se procedió, a los 11 años de edad, a la retirada progresiva de los mineralocorticoides y glucocorticoides. En situación de insuficiencia suprarrenal se procedió a la extracción de sangre para evaluar la función suprarrenal con los siguientes resultados: hormona adrenocorticotropa (ACTH) 1.450 pg/ml (N = 9-52), 17-OH-progesterona, cortisol, D-4-androstendiona basales y tras 250 µg de ACTH sintética intravenosa indetectables. Los de renina fueron muy elevados (1.900 µU/ml) y los de aldosterona también indetectables. A la edad de 13,4 años se realizó un test de hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH) con una hormona luteinizante (LH) y hormona foliculoestimulante (FSH) basales y tras el estímulo indetectables y de 2,2 y 3,8 mU/ml, respectivamente. Los de hormona tiroestimulante (TSH) y hormona del crecimiento (GH) basales tras estimulación resultaron normales y los de testosterona, ausentes. Recibió tratamiento sustitutivo con preparados *depot* de testosterona. Su talla final ha sido de 150 cm (talla diana, 164 cm). Inició un desarrollo puberal espontáneo pero incompleto, y el volumen testicular definitivo alcanzado fue de 6 ml con una pubarquia de V.

El estudio genético se realizó a partir de leucocitos de sangre periférica del paciente. Se extrajo el ADN y se amplificó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) el gen *DAX-1*: el exón 1 en dos fragmentos solapados y el exón 2 en otro fragmento. Fueron purificados y posteriormente secuenciados por el método del dideoxi utilizando como cebadores los mismos de la amplificación y 6 más internos al fragmento. El electroferograma obtenido permitió identificar la mutación: pGly168fsX17, que consiste en una inserción del nucleótido A en el gen *DAX-1* entre el nucleótido 501 y 502, considerando la A del codón ATG inicial el +1, que altera la pauta de lectura a partir del codón 168 y da lugar a un codón de parada prematura 17 codones corriente abajo (fig. 1). La proteína resultante truncada tiene una longitud de 185 Aa en lugar de los 470 normales y por tanto, se puede asumir que es no funcional.

DISCUSIÓN

El paciente presenta una mutación del gen *DAX-1* no documentada previamente. Las manifestaciones clínicas comenzaron en el período neonatal como una insuficiencia suprarrenal grave y global. Su hermano gemelo univitelino falleció de un cuadro de choque, lo que demuestra que esta patología puede estar infradiagnosticada y que muchos pacientes deben de fallecer en el período neonatal sin diagnóstico. Posteriormente, nuestro paciente presentó una recuperación clínica durante 2 años en los que estuvo bien sin tratamiento, para reaparecer el cuadro posteriormente con una nueva insuficiencia suprarrenal aguda. Este aspecto ha sido comunicado en diferentes publicaciones y para su explicación se ha argüi-

do el que en determinadas mutaciones las células de la corteza suprarrenal sobrevivirían durante un tiempo¹¹.

El gen *DAX-1* consta de 2 exones y un intrón y se han descrito más de 85 mutaciones y deleciones. Muchas de rogan la capacidad de *DAX-1* de reprimir la transcripción mediada por SF-1, lo cual sugiere que un antagonismo funcional entre estos dos receptores nucleares huérfanos puede ser importante en el desarrollo de la corteza suprarrenal¹²⁻¹⁵. SF-1 interviene además en el desarrollo del núcleo ventricular del hipotálamo, activa promotores de las unidades alfa de las gonadotropinas y la expresión de varias enzimas de la esteroidogénesis suprarrenal^{16,17}. En el caso de grandes deleciones de *DAX-1*, la hipoplasia adrenal puede asociarse a la enfermedad de Duchenne y a déficit de glicerolcinosas como parte de un síndrome de deleción de genes contiguos¹⁸.

La anomalía que presenta nuestro paciente resulta en la síntesis de una proteína truncada y coincide con la mayoría de las descritas, que son mutaciones sin sentido, de cambio en la pauta de lectura o deleciones. Todas ellas son alteraciones genéticas graves lo cual sugiere que para causar los síntomas clínicos la proteína ha de estar gravemente afectada.

El espectro clínico de estos cuadros es sumamente variable si bien la mayoría de los casos se inician en el período neonatal en forma de insuficiencia suprarrenal, aunque hay casos descritos en adultos. En la mayor parte de los pacientes no se desarrolla la pubertad, aunque también se han descrito desarrollo parcial o incompleto o minipubertad o pubertad precoz^{19,20}. Nuestro paciente presentó desarrollo puberal espontáneo, pero el volumen testicular alcanzado fue de sólo 6 ml. La talla final conseguida ha quedado debajo de las expectativas genéticas a pesar del tratamiento con testosterona desde el inicio teórico de su pubertad.

La talla baja de nuestro paciente es de causa desconocida, los estudios sobre secreción y acción de la GH fueron normales y no se objetivaron otras alteraciones hormonales ni tampoco estuvo sobredosificado con corticoides. Hasta los 14 años la edad ósea corrió pareja a la cronológica. Quizá puede argumentarse como causa de la misma una falta de sinergismo entre la secreción de gonadotropinas ausente con la de GH, o que la propia talla baja forme parte del complejo sindrómico de alteración del gen *DAX-1*. En los casos publicados no se hace referencia a la talla de estos pacientes excepto un caso con talla alta²¹ y, en nuestra opinión, debería analizarse para descartar o aseverar la hipótesis expresada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mc-Cabe ERB. Adrenal hypoplasias and aplasias. En: Scriver. Beaudet. Valle. Sly. Childs. Kinzler. Vogelstein. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8ª ed. Mc-Graw-Hill. 2001;167:4263-74.

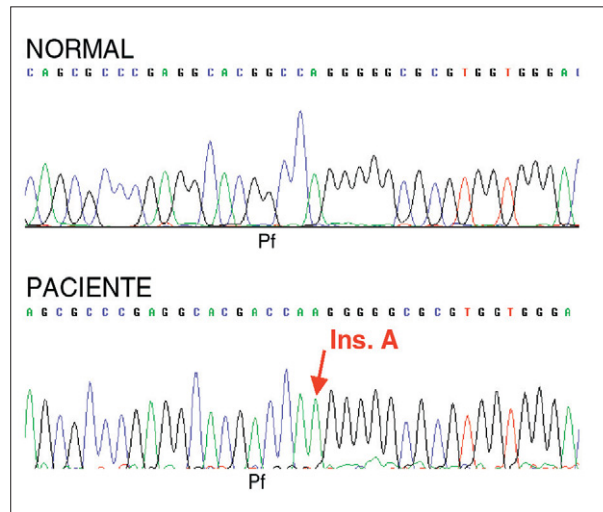


Figura 1. Secuencia parcial del gen *DAX-1* normal y del paciente en donde se aprecia la inserción de una A que altera la pauta de lectura. También se señala el polimorfismo (Pf) rs2269345 para el que el paciente tiene el alelo A y el control el alelo G; ambos son normales.

2. Achermann JC, Meeks JJ, Jameson JL. Phenotypic spectrum of mutations in *DAX-1* and SF-1. *Mol Cell Endocrinol.* 2001;185:17-25.
3. Zazopoulos E, Lalii E, Stocco DM, Sassone-Corsi P. DNA binding and transcriptional repression by *DAX-1* blocks steroidogenesis. *Nature.* 1997;390:311-5.
4. Kletter GB, Gorski JL, Kelch RP. Congenital adrenal hypoplasia and isolated gonadotropin deficiency. *Trends Endocrinol Metab.* 1991;2:123-8.
5. Muscatelli F, Strom TM, Walker AP, Zanaria E, Recan D, Meindl A, et al. Mutations in the *DAX-1* gene give rise to both X-linked adrenal hypoplasia congenita and hypogonadotropic hypogonadism. *Nature.* 1994;372:672-6.
6. Zanaria E, Muscatelli F, Bardoni B, Strom TM, Guioli S, Guo W, et al. An unusual member of the nuclear hormone receptor superfamily responsible for X-linked adrenal hypoplasia congenita. *Nature.* 1994;372:635-41.
7. Guo W, Burris TP, McCabe ER. Expression of *DAX-1*, the gene responsible for X-linked adrenal hypoplasia congenita and hypogonadotropic hypogonadism, in the hypothalamic-pituitary-adrenal/gonadal axis. *Biochem Mol Med.* 1995;56:8-13.
8. Swain A, Zanaria E, Hacker A, Lovell-Badge R, Camerino G. Mouse *Dax1* expression is consistent with a role in sex determination as well as in adrenal and hypothalamus function. *Nat Genet.* 1996;12:404-9.
9. Lalli E, Bardoni B, Zazopoulos E, Wurtz JM, Strom TM, Moras D, et al. A transcriptional silencing domain in *DAX-1* whose mutation causes adrenal hypoplasia congenita. *Mol Endocrinol.* 1997;11:1950-60.
10. Hossain A, Li C, Saunders GF. Generation of two distinct functional isoforms of dosage-sensitive sex reversal-adrenal hypoplasia congenita-critical region on the X chromosome gene 1 (*DAX-1*) by alternative splicing. *Mol Endocrinol.* 2004;18:1428-37.
11. Salvi R, Gómez F, Fiaux M, Schorderet D, Jameson JL, Achermann JC, et al. Progressive onset of adrenal insufficiency and hypogonadism of pituitary origin caused by a complex genetic rearrangement within *DAX-1*. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:4094-100.

12. Nakae J, Abe S, Tajima T, Shinohara N, Murashita M, Igarashi Y, et al. Three novel mutations and de novo deletion mutation of the *DAX-1* gene in patients with X-linked adrenal hypoplasia congenita. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:3835-41.
13. Lehmann SG, Lalli E, Sassone-Corsi P. X-linked adrenal hypoplasia congenita is caused by abnormal nuclear localization of the *DAX-1* protein. *P Nac Academ Sci.* 2002;99:8225-30.
14. Ito M, Yu R, Jameson JL. *DAX-1* inhibits SF-1-mediated transactivation via a carboxy-terminal domain that is deleted in adrenal hypoplasia congenita. *Mol Cell Biol.* 1997;17:1476-83.
15. Crawford PA, Dorn C, Sadovsky Y, Milbrandt J. Nuclear receptor *DAX-1* recruits nuclear receptor corepressor N-CoR to steroidogenic factor 1. *Mol Cell Biol.* 1998;18:2949-5629.
16. Lehmann SG, Wurtz JM, Renaud JP, Sassone-Corsi P, Lalli E. Structure-function analysis reveals the molecular determinants of the impaired biological function of *DAX-1* mutants in AHC patients. *Human Molecular Genetics.* 2003;9:1063-72.
17. Mizusaki H, Kawabe K, Mukai T, Ariyoshi E, Kasahara M, Yoshioka H, et al. *DAX-1* (dosage-sensitive sex reversal-adrenal hypoplasia congenita critical region on the X chromosome, gene 1) gene transcription is regulated by *wnt4* in the female developing gonad. *Molec Endocrinol.* 2003;17:507-19.
18. Casado de Frías E, Ruibal Francisco JL, Bueno Lozano G, Pínel Simón G, Reverte Blanc F, Benítez Ortiz J. Síndrome de delección de genes continuos en Xp-21 (déficit complejo de glicerol-cinasa) e hipoplasia suprarrenal congénita. *An Esp Pediatr.* 1997;47:639-42.
19. Tabarin A, Acherman JC, Recan D, Bex V, Bertagna X, Christin-Maitre S, et al. A novel mutation in *DAX-1* causes delayed onset adrenal insufficiency and incomplete hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Invest.* 2000;105:321-8.
20. Argente J, Ozisik G, Pozo J, Muñoz MT, Soriano-Guillén L, Jameson JL. A novel single base deletion at codon 434 (1301delT) of the *DAX-1* gene associated with prepubertal testis enlargement. *Mol Genet Metab.* 2003;78:79-81.
21. Francese A, Brunetti-Pierri N, Spadaro R, Mukai T, Valerio G. Inappropriate tall stature and renal ectopy in a male patient with X-linked congenital adrenal hypoplasia due to a novel missense mutation in the *DAX-1* gene. *Am J Med Genet.* 2005;135A:72-4.