



Facultad de Medicina
Departamento de Medicina

**Niveles de dehidroepiandrosterona sulfato (DHEA-S) y sus efectos en adolescentes.
Estudio de polimorfismos genéticos relacionados con dichos niveles.**

TESIS DOCTORAL

Alicia García Anguita
Licenciada en Biología

Directora
Dra. Carmen Garcés Segura

**LABORATORIO DE METABOLISMO LIPÍDICO
IIS-FUNDACIÓN JIMÉNEZ DÍAZ
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID**

A mi padre

A Manuel



“Con esa sensación de destino todavía por cumplir”

En primer lugar y muy especialmente al *Prof. Manuel de Oya*, alma del Laboratorio de Lípidos y del Estudio 4P, por darme la oportunidad de aparcarme los altos vuelos e incorporarme a la familia lipídica. Siento muchísimo no haber contado con más tiempo para aprender de ti, pero me quedo compartiendo la idea de que todo en la vida es “*serendipity*”.

A *Carmen*, por su comprensión y cariño a lo largo de estos años. Por haber seguido con la apuesta de Manuel por mí, porque tu ilusión y esfuerzo por continuar el proyecto “a pesar de” es loable. Por tus consejos, correcciones y por dirigirme esta tesis.

A la Fundación Conchita Rábago, por la concesión de la beca que me ha permitido la estancia en la Fundación Jiménez Díaz, especialmente a *Marta Jiménez*, ya que en el 2011, mal año para las dos, me ha demostrado interés y cariño.

A todos los integrantes del “Estudio Cuatro Provincias”, cuya huella permanece aun en el laboratorio: *Quique, Merce, Iri, Bea* (por tu inicio de la DHEA y nuestra conexión).

A mi familia: mis hermanos, *Jose* y casi hermana *Manuela*, y *Angel* por tu cariño, tu confianza, por estar siempre cerca. A mis tres pedacitos de alma: *Paula, Marina* y *Leire*, por existir y hacerme sentir tan querida. A *Susana* y *Ernesto, Angelines* y *Juan*, por haber estado incluso cuando no parecía ser del agrado de todos. *Cova* y *Pilar* por estar siempre al lado de mi madre, y por ende, al mío.

A *Miki*, por dos años y medio de apoyo constante, a pesar de todo...por lo mejor y lo peor. Por *Nura, Clau* y *Coco*.

A mi “*abu*”, por su coraje a lo largo de la vida, porque te sobran los motivos...

A mi *madre*, porque ninguno es responsable de las cosas que le ocurren pero sí de la reacción cuando le ocurren...admiro tus reacciones. Por tu amor.

A mi *padre*, papá, un hombre dotado de un sentido del humor tan profundo que era lo contrario de un gracioso; por todo lo que me has enseñado a lo largo de la vida, por tu herencia: la lealtad y la dignidad hasta el final...Eres lo último que veo antes de dormir, en una dimensión, muy lejos del olvido. Te quiero.

A la 4ª planta del IIS-FJD:

Niñas de Lípidos, gracias por acogerme:

Laura, por dedicarme tu tiempo y paciencia para recordarme todo lo que había olvidado de la biología tras 5 años de "hipoxia voladora".

Pía, especialmente, por compartir incluso los silencios, por ser mi amiga y por creer firmemente en "lo bueno que nos deparará la vida".

Lorena, "pichona", por tu ilusión diaria, por ser tan buena compañera haciendo tantas PCR's para mi, por ser la fan nº 1 de mis tonterías, deseo que las adipoquinas den su fruto.

Óseos:

Luis, por nuestro mutuo cariño, por tu sentido del humor y porque sin ti no sería "alipendi".

Adela, porque sin saberlo hemos compartido tanto en la vida! por estar siempre a la altura, por tu fuerza y sensibilidad...¡y por el salmorejo!

Marta, por tus "atléticas" y continuas sonrisas...¡A ver si aprendes andaluz, que es el idioma del futuro!

Ana, por tanto llanto y sonrisas compartidas al principio de nuestro recorrido hacia el doctorado.

Hemato:

Aranzazu, Aran, porque eres de esas personas que siempre sorprenden para bien, por nuestras risas, por lo profundo y lo banal, por compartir conmigo tus conocimientos de "worz" y de la vida, por estar a mi lado con el corazón. Eres "espectacular". Espero que nuestra amistad siga muchos años.

Irene, pequeña, a la buena gente el destino le tiene algo bueno guardado así que adelante con tus "candidaturas espontáneas"... Eres un descubrimiento "genial" en mi vida.

Dra. Ita Ita...gracias por ese LMG que se ha convertido en seña de identidad.

Micro:

Gema ¡me encantaría entrar por un momento en tu "mundo extraterráqueo" para disfrutar. Por tu bondad y tu sonrisa a las 4 de la tarde!

Diana, Dancing Queen, por dejarte conocer un poquito ¡Escorpio mía! Gracias por compartir amistad, "reacciones de patatas", ilusión y cabreos. Y por ayudarme con las figuritas de la tesis.

"Otros"

Jessica y Laura, por las cañitas y charlas de alguna que otra tarde que ayudan a despejarse de la rutina.

Adriana, por tus frikadas...

Sara Perlado, por dedicarme tiempo para el cromosoma 19.

En general a tod@s por haberme apoyado sobre todo en este año y haber estado con una inmensa generosidad. Me siento en casa y os quiero.

A mis amigas, mi familia postiza, las mejores que podría desear:

Ibéricas

Nata, por estar en todo momento, en lo bueno y sobre todo en lo malo malísimo, por tus ánimos, por tu cariño constante, porque sabes hacer las cosas más difíciles y esenciales de la vida...no aportas un grano de arena ¡eres una playa entera !

Marga, mi "poma" del alma, porque has hecho que no me deje llevar por el desaliento después "de", por tus filosofadas, por nuestras peliculitas, por tu sensibilidad e inteligencia.

Rosa, por tu impulso y apoyo para seguir mis instintos, porque estoy convencida de que si no tengo futuro en la ciencia o en la aviación, lo tendré con mi "cante" y tu acordeón. Gracias por compartir surrealismo. Eres el tesoro que todo el mundo querría descubrir...he tenido esa suerte.

A las pretas chipioneras en especial a *Ana Belen*, por confiar en mí, porque espero verte despegar del todo, porque "tú lo vales", por nuestras infinitas charlas que tanto echo de menos en Madrid y sobre todo por nuestro pasado y futuro.

Re, conocerte es quererte, por haber sido tan generosa conmigo especialmente en este año.

A *Chus*, "urifriski" por apostar tanto por nuestra amistad...tus ánimos y comprensión siempre... Me sobran las palabras con las tres.

Mis niñas granaínas, *Laurita* y *Belen*, ¿7 años han pasado ya? todos y cada uno de los momentos juntas me han alentado a seguir. Os siento cerca siempre.

Arantxa, por nuestros desencuentros continuos. Gracias por introducirme en el mundo "*Curves*" que tan bien me ha venido en éste último año.

Dan y Josemapul, por las idas y venidas que nos llevan siempre al mismo punto: compartir un pedacito de la vida.

A las ***Santamarqueñas***, por el reencuentro y cariño resucitado, porque me ha recordado de dónde procede mi educación aparte de la de mis padres.

Al equipo médico de ***Urología del Hospital de la Princesa de Madrid***, por el trato con mi padre a lo largo de diez años, pero muy especialmente en los últimos quince días del mes de noviembre de 2011... **¡GRACIAS!**: *Dra. Bocado*, *Dr. Teba*, *Dr. Arellano*, *Dr. Pereira*, *Dr. Herrero*, *Dr. Bryme*...no sólo por la buena praxis, sobre todo por vuestra humanidad (aunque él lo pusiera fácil).

En el punto de partida...

Resumen

La dehidroepiandrosterona sulfato (DHEA-S) es la hormona esteroidea más abundante en el cuerpo humano. Los niveles plasmáticos de DHEA-S se mantienen bajos hasta el momento de la adrenarquia (6-8 años) para luego ir aumentando y alcanzar su pico de concentración alrededor de los 25-30 años.

Estudios previos en población prepuberal han demostrado que las concentraciones de DHEA-S están directamente relacionadas con el peso, la talla, el IMC y el peso al nacer, y que las alteraciones lipídicas asociadas a la obesidad están moduladas por la DHEA-S. En hormonales asociados con importantes cambios metabólicos, tales como variaciones en las medidas antropométricas y en los niveles lipídicos, los datos sobre la relación de la DHEA-S con dichos cambios son escasos.

Por ello nos propusimos caracterizar la DHEA-S en 812 niños y niñas de 12 a 16 años, y analizar si los niveles de esta hormona podrían estar relacionados con las variaciones en las variables antropométricas y lipídicas que se producen a ésta edad.

Se sabe que la DHEA-S es el resultado de la sulfatación de la DHEA, proceso regulado por la enzima sulfotransferasa (SULT2A1). En nuestro estudio hemos analizado polimorfismos (rs182420 y rs2637125) en el gen de la SULT2A1 que podrían relacionarse con las variaciones en los niveles plasmáticos de la DHEA-S y por tanto con los perfiles antropométricos y lipídicos de nuestra población.

Las conclusiones a las que llegamos son que los niveles de DHEA-S son significativamente mayores en los niños y niñas que presentan exceso de peso frente a los que tienen un peso normal. Sin embargo, en esta edad, no encontramos ninguna asociación de la DHEA-S con el peso al nacer.

Los niveles de DHEA-S no se relacionan con variaciones en los niveles de lípidos en la adolescencia. Tampoco existe correlación entre la DHEA-S y la insulina o el índice HOMA, pero sí existe una correlación significativa con los niveles de ácidos grasos libres, que sugieren que los ácidos grasos libres aumentan los niveles de DHEA-S antes de provocar hiperinsulinemia o resistencia a la insulina.

Los polimorfismos estudiados en el gen SULT2A1 no están relacionados con las concentraciones de DHEA-S en niños de 6 a 8 años pero sí se asocian significativamente con los niveles de DHEA-S en la edad adolescente, cuando los niveles de DHEA-S están aumentando hacia los niveles propios de la edad adulta.

ABREVIATURAS

ACTH	Hormona adrenocorticotrópica
AGL	Acidos Grasos Libres
ANOVA	Análisis de varianzas
Apo	Apolipoproteína
C-HDL	Colesterol transportado en lipoproteínas de alta densidad
C-LDL	Colesterol transportado en lipoproteínas de baja densidad
CT	Colesterol total
DHEA	Dehidroepiandrosterona
DHEA-S	Dehidroepiandrosterona Sulfato
DMT2	Diabetes Mellitus tipo 2
EC	Enfermedad Cardiovascular
FSH	Hormona folículo estimulante
IMC	Índice de Masa Corporal
HOMA	Homeostasis Model Assessment Index
P.A.	Presión Arterial
PCOS	Síndrome de ovario poliquístico
RI	Resistencia a la Insulina
TG	Triglicéridos
SHBG	Globulina transportadora de hormonas sexuales
SULT	Sulfotransferasa
STS	Sulfohidrolasa
ZR	Zona Reticular Adrenal

INTRODUCCIÓN

1.- DHEA y DHEA-S	3
2.- Evolución en el tiempo de los niveles de DHEA-S	5
3.- Implicación fisiológica de la DHEA-S y sus mecanismos de acción	7
4.- Relación de la DHEA-S con las variables antropométricas	9
4.1. DHEA-S y peso al nacer	
5.- DHEA-S y perfil lipídico	13
6.- DHEA-S y resistencia a la insulina	14
7.- Determinantes genéticos relacionados con la sulfotransferasa SULT2A1	17

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	21
------------------------------------	----

MATERIAL Y MÉTODOS

1.- Muestra	23
1.1. Población	
1.2. Procedimiento de muestreo	
2.- Obtención de la muestra	24
3.- Recogida de información sobre las medidas físicas y la presión arterial	25
4.- Determinaciones Bioquímicas	
4.1. Determinaciones del perfil lipídico.....	27
4.2. Determinaciones hormonales.....	28
5.- Determinaciones Genéticas	
5.1. Obtención y cuantificación de DNA.....	31
5.2. Determinación de los polimorfismos rs2637115 y rs182420 del gen SULT2A1.....	33
6.- Análisis Estadístico	35

RESULTADOS

1.- Descripción de la muestra

1.1. Descripción de las variables antropométricas.....	38
--	----

2.- Análisis descriptivo de los niveles de DHEA-S en la población

2.1. Niveles de DHEA-S por sexos.....	40
2.2. Percentiles de niveles de DHEA-S.....	40
2.3. Niveles de DHEA-S por edad.....	41

3. - DHEA-S y variables antropométricas

3.1. Niveles de DHEA-S por categorías de obesidad.....	42
3.2. Análisis de correlación entre los niveles de DHEA-S y las variables antropométricas.....	42

4. DHEA-S y perfil lipídico

4.1. Correlaciones del IMC con el perfil lipídico por terciles de DHEA-S.....	45
--	----

5. DHEA-S y resistencia a la insulina

5.1. Valores medios de las variables relacionadas con la resistencia a la insulina.....	46
5.2. Valores medios de las variables relacionadas con la resistencia a la insulina por edades.....	47
5.3. Análisis de la correlación de los niveles de DHEA-S con las variables relacionadas con la resistencia a insulina.....	48

6. DHEA-S y presión arterial..... 50

7. DHEA-S y otras hormonas

7.1. DHEA-S y hormonas sexuales: FSH, LH, testosterona, estradiol y SHBG.....	51
7.2. DHEA-S y adipoquinas: leptina y adiponectina.....	52
7.3. Relación de la DHEA-s con la edad de la menarquia en las niñas.....	53

8. Tracking de la DHEA-S desde la infancia a la adolescencia

8.1. Comparación de los niveles de DHEA-S en ambas edades.....	54
8.2. Análisis del tracking entre los niveles de DHEA-S los 6-8 años y a los 12-16.....	55-56
a) Análisis de correlación	
b) Análisis de regresión	
c) Análisis de persistencia	

9. Relación de los polimorfismos rs 2637125 y rs 182420 en el gen SULT2A1

9.1. Polimorfismo rs2637125	
9.1.1. Niveles de DHEA-S según el genotipo del Polimorfismo rs2637125 del gen SULT2A1.....	58
9.1.2. Relación del polimorfismo rs2637125 con las variables antropométricas.....	59
9.1.3. Relación del polimorfismo rs2637125 con el perfil lipídico y las variables relacionadas con la resistencia a la insulina.....	61
9.1.4. Relación del polimorfismo rs2637125 con los niveles de hormonas sexuales.....	63
9.2. Polimorfismo rs182420	
9.2.1. Niveles de DHEA-S según el genotipo.....	66
9.2.2. Relación del polimorfismo rs182420 con las variables antropométricas.....	67
9.2.3. Relación del polimorfismo rs182420 con el perfil lipídico y las variables relacionadas con la resistencia a la insulina.....	69
9.2.4. Relación del polimorfismo rs182420 con los niveles de hormonas sexuales.....	73

DISCUSIÓN	75-90
CONCLUSIONES	92-93
BIBLIOGRAFÍA	95-125

ANEXO

Publicaciones derivadas de ésta tesis

<u>LISTADO DE FIGURAS</u>	pags.
Figura 1. Molécula de DHEA-S	4
Figura 2. Variación de los niveles de DHEA-S a lo largo de la vida	6
Figura 3. Metabolismo de las hormonas esteroideas	7
Figura 4. Reconstrucción tridimensional de la estructura terciaria de la molécula de la sulfotransferasa	18
Figura 5. Cromosoma 19	19
Figura 6. Localización de los polimorfismos rs2637125 y rs182420 del gen de la sulfotransferasa SULT2A1	19
Figura 7. Determinación de DHEA-S, testosterona y estradiol mediante RIA	29
Figura 8. Determinación de la insulina, SHBG, FSH y LH mediante IRMA	30
Figura 9. Mapa de discriminación alélica	34
Figura 10. Prevalencia de exceso de peso en la población	39
Figura 11. Niveles de DHEA-S por sexo y edad	41
Figura 12. Porcentaje de persistencia o cambio de tercil de DHEA-S en el segundo corte (12-16 años).	56
Figura 13. Porcentaje de persistencia o cambio de tercil de DHEA-S en el segundo corte en niños (n=145)	56
Figura 14. Porcentaje de persistencia o cambio de tercil de DHEA-S en el segundo corte en niñas (n=175)	56

Introducción



El andrógeno adrenal dehidroepiandrosterona (DHEA) y su forma sulfatada, dehidroepiandrosterona-sulfato (DHEA-S) han despertado mucho interés en los últimos años a causa de su asociación con las patologías asociadas a la edad¹.

Esta hormona posee una evolución tan paralela al envejecimiento humano, que algunos autores la han propuesto como marcador biológico del envejecimiento^{1 2 3}, llegando incluso a ser considerada como la hormona "fuente de la juventud"^{4 5}.

Se ha descrito que los niveles de DHEA-S se encuentran disminuidos en distintas patologías tales como casos de déficit inmunológico (síndrome de Sjögren⁶ y lupus eritematoso sistémico^{7 8}), en hígado graso no alcohólico⁹, hirsutismo¹⁰ y alopecia androgénica¹¹.

La DHEA se administra como suplemento nutricional con fines terapéuticos debido a sus potenciales efectos anti-inflamatorios¹², anticancerígenos^{13 14}, anti-ateroscleróticos¹⁵, anti-depresivos^{16 17 18 19}, y en adultos jóvenes con insuficiencia adrenal se ha demostrado que la administración de dosis de 25-50 mg/día de DHEA es capaz de restablecer los niveles circulantes de DHEA-S en el rango normal para su edad^{20 21 22}.

No se sabe si el declive de la producción de la DHEA al envejecer es clínicamente importante o no, pero dado el marcado descenso de esta hormona con la edad, se ha especulado mucho sobre si la administración de DHEA podría revertir algunos de los cambios en la composición corporal y en el comportamiento que ocurren con el envejecimiento como son la pérdida de la función cognitiva²³ los trastornos de memoria^{24 25}, los trastornos del sueño²⁶ o el deterioro general en la sensación de bienestar^{27 28}.

La complejidad del proceso de envejecimiento sin embargo, va más allá de una simple deficiencia hormonal. En personas de edad avanzada se han descrito entre otros, variaciones de las 3 hormonas adrenocorticales mayoritarias: cortisol, aldosterona y DHEA. Existe la posibilidad de que la disminución que sufren los niveles de DHEA-S a lo largo de la vida del individuo no sea un efecto más del envejecimiento, sino la causa misma²⁹. Sin embargo, al considerar los cambios en las funciones endocrinas que ocurren con la edad, es importante distinguir entre los efectos de la edad *per se* en la fisiología endocrina y aquellos causados por enfermedades relacionadas con el envejecimiento, dada la gran prevalencia de enfermedades sintomáticas y asintomáticas que se dan al envejecer³⁰.

En modelos animales, la DHEA ha demostrado tener efectos beneficiosos sobre la diabetes³¹, la obesidad^{32 33} o el cáncer^{34 35}.

En humanos, el declive en las concentraciones plasmáticas de la DHEA y la DHEA-S a partir de los 25-30 años³⁶, ha sugerido que la deficiencia de estos esteroides podría estar causalmente relacionada con el desarrollo de enfermedades crónicas como son la insulino-resistencia³⁷, la obesidad^{38 39}, y enfermedades cardiovasculares^{40 41 42 43}.

Estudios epidemiológicos han demostrado una acción antiaterogénica tanto de la DHEA como de su forma sulfatada DHEA-S^{44 45 46}.

Las evidencias más fuertes de que los niveles de DHEA-S pueden influir en el desarrollo de la aterosclerosis provienen de experimentos con animales. Así, la administración de DHEA en conejos hipercolesterolémicos a los que se realizan trasplantes cardíacos, retrasa significativamente la progresión de la aterosclerosis tanto en el corazón trasplantado como en el corazón nativo⁴⁷.

Gordon et al⁴⁸ en 1988 estudió conejos New Zealand White a los que se les indujo daño endotelial aórtico y recibieron una dieta rica en colesterol. Aquellos conejos a los que se les administró además dosis de DHEA durante 12 semanas presentaron una reducción del 50% en el tamaño de la placa aterosclerótica comparados con los conejos que no recibieron suplementación de DHEA; además el tamaño de la placa estaba inversamente relacionado con el nivel sérico de DHEA alcanzado.

Más recientemente, en 2009, Yamakawa T et al⁴⁹, en ratones "knockout" para apo E, a los que se les suministraba una dieta hipercolesterolémica de 12 semanas, demostraron que la suplementación de DHEA, a pesar de no disminuir los niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos, provocaba la reducción en un 45% de la lesión aterosclerótica producida en el seno aórtico.

1.- DHEA y DHEA-S

Cuantitativamente la DHEA es la hormona esteroidea más abundante en el cuerpo humano, con una extensa variedad de efectos fisiológicos^{50 51}.

La DHEA es el principal esteroide suprarrenal C-19 secretado por la zona reticular de la corteza adrenal y su peso es de 288kD. La vida media en el plasma de la DHEA es de aproximadamente 1-3 horas. La secreción de la DHEA está regulada por la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) y por otras hormonas de origen hipofisario⁵².

Una hidroesteroide sulfatasa (SULT2A1) convierte la DHEA a DHEAS y una sulfhidrolasa (STS) invierte esta reacción. *Bird et al* demostraron que el 64% y 74% de la producción diaria de DHEA es convertida en DHEA-S, en hombres y mujeres respectivamente, pero tan sólo alrededor de un 13 % es nuevamente hidrolizado en DHEA⁵³.

La forma sulfatada DHEA-S tiene un peso molecular de 371kD y una vida media de 15 horas. Las concentraciones séricas de DHEA-S son unas 20 veces más altas que las de cualquier otra hormona esteroidea y unas 300 a 500 veces más elevadas que las de la DHEA⁵⁴.

A diferencia de lo que ocurre con la DHEA, la DHEA-S no sufre tantas variaciones diurnas ni diferencias de un día a otro, y no varían a lo largo del ciclo menstrual⁵⁵. Debido a su vida media más larga y a esta menor variación diaria resulta clínicamente más útil medir las concentraciones plasmáticas de DHEA-S que de DHEA.

La DHEA-S circula en el suero ligada a la albúmina y su aclaramiento metabólico es relativamente lento. Los riñones son los responsables de dicho aclaramiento y sus metabolitos se pueden medir en la orina en forma de 17-cetoesteroides (17-KS)⁵⁶. La DHEA-S parece ser un excelente indicador de la producción adrenal de andrógenos y su sensibilidad como indicador de la secreción suprarrenal de andrógenos es mayor que la de los 17-KS urinarios⁵⁷.

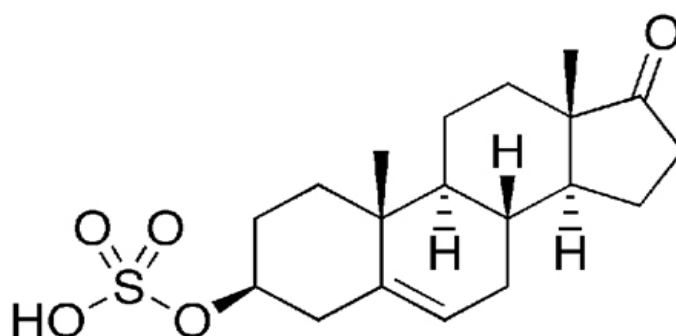


Figura 1. Molécula DHEA-S

2.- Evolución en el tiempo de los niveles de DHEA-S

La glándula adrenal fetal secreta grandes cantidades de DHEA, por lo que, la concentración sérica de DHEA-S es relativamente elevada en el momento del nacimiento (alrededor de 100-200 $\mu\text{g/ml}$) para decaer rápidamente después debido a la involución de ciertas zonas adrenales fetales^{58 59 60 61}. Desde el primer año de vida hasta los seis años las concentraciones plasmáticas de DHEA-S son bajas; a partir de los años previos a la pubertad se produce un incremento gradual y progresivo⁶² debido a que se da una transformación morfológica en la zona adrenal (cortical y reticular) acompañada por un aumento en las tasas de producción de la DHEA/DHEA-S en este período peripuberal. El aumento de los andrógenos suprarrenales producidos en ese momento constituye el proceso conocido como adrenarquia y es independiente de la maduración gonadal, que requiere gonadotropinas hipofisarias. Este aumento que se produce está correlacionado con la edad y el estado puberal, en ambos sexos⁶³.

Debido a que no hay evidencia de un aumento en la producción de ACTH hipofisaria en la adrenarquia⁶⁴, los mecanismos de la génesis y posterior mantenimiento de la zona reticular y las altas tasas de DHEA / DHEA-S en la edad adulta todavía se desconocen⁶⁵.

La producción adrenal de andrógenos y por tanto las concentraciones séricas de DHEA y DHEA-S, alcanzan su máximo durante la tercera década de la vida, para a partir de ahí descender paulatinamente, en ambos sexos^{66 67 68}, hasta alcanzar, en torno a los 80 años, valores próximos a los que se tenían en la etapa de la preadrenarquia^{69 70}. Dependiendo de la edad las concentraciones plasmáticas de DHEA-S en adultos varían en rangos muy amplios⁷¹.

Sabiendo que la DHEA y DHEA-S son las precursoras de las hormonas sexuales, no es de sorprender que aparezcan importantes diferencias entre sexos en cuanto a los niveles circulantes de estas hormonas. Las concentraciones de DHEA(S) en adultos, son mayores en hombres que en mujeres, tal como ha sido descrito entre otros por Orentreich et al⁷² y Arlt W⁷³ (figura 2). Así mismo se ha demostrado que los niveles plasmáticos de DHEA-S difieren entre las distintas razas como se ha visto en mujeres perimenopáusicas japonesas y caucásicas⁷⁴.

La influencia de la DHEA(S) en la salud varía según el sexo, aunque las informaciones al respecto son contradictorias pues algunos autores sugieren una asociación de la DHEA sólo en los hombres⁷⁵ ⁷⁶ y otros sugieren asociaciones más fuertes en las mujeres que en los hombres de un mismo estudio⁷⁷.

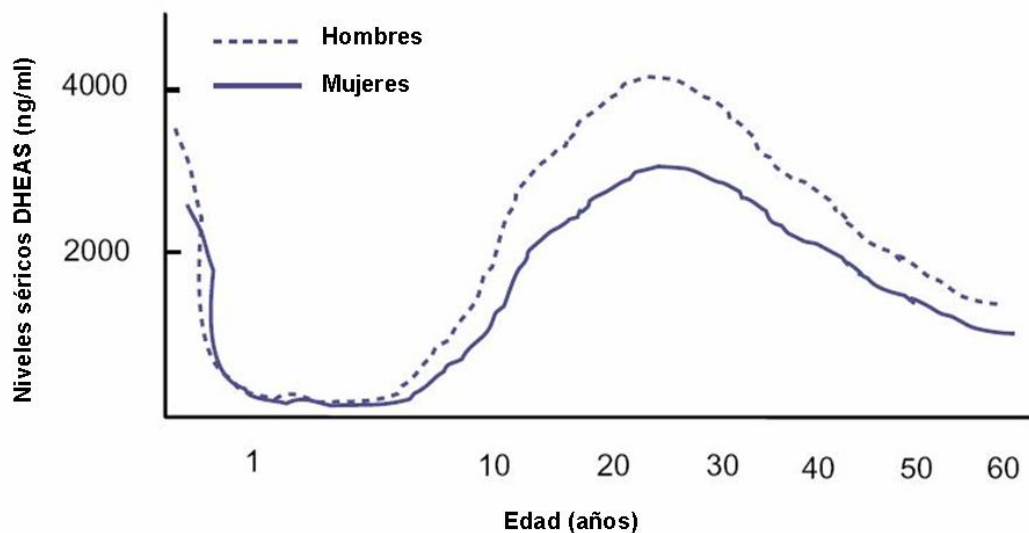


Figura 2. Variación de los niveles de DHEA-S a lo largo de la vida

(Arlt W. *Best Pract Res Cl En* 2004; 18:363-380)

3.- Implicación fisiológica de la DHEA-S y sus mecanismos de acción

La DHEA, es una hormona derivada del colesterol, y forma parte de un paso intermedio en el metabolismo de los esteroides sexuales adrenales (fig 3)

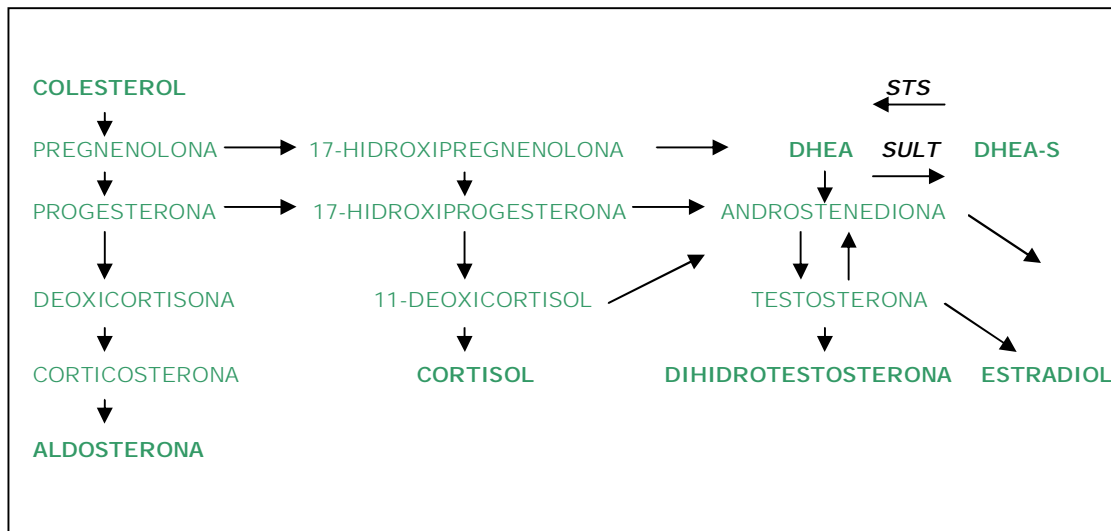


Figura 3. Metabolismo de las hormonas esteroideas

La DHEA es un andrógeno biológicamente débil, secretado en grandes cantidades por la corteza adrenal tanto en humanos como en otros primates⁷⁸. Per sé, ni la DHEA ni la DHEA-S tienen una actividad androgénica significativa pero debido a sus altas concentraciones séricas y su conversión a andrógenos de mayor potencia en los tejidos periféricos⁷⁹, contribuyen de forma significativa al proceso de virilización.

La DHEA(S) es la precursora de aproximadamente el 50 % de los andrógenos en hombres, el 75 % de estrógenos activos en mujeres premenopáusicas y del 100 % en mujeres post-menopáusicas⁸⁰.

La DHEA es convertida en DHEA-S en la glándula adrenal y en el hígado, los cuales contienen una sulfotransferasa. Mientras que la DHEA-S vuelve a convertirse en DHEA en los tejidos periféricos que contienen una sulfatasa. En las glándulas suprarrenales y los tejidos

periféricos tales como los folículos pilosos, próstata, genitales externos y el tejido adiposo, pequeñas cantidades de DHEA y DHEA-S se convierten en andrógenos más activos como la androstenediona y la testosterona, la androstenediol, y 5-dihidrotestosterona, y en los estrógenos como estradiol y estrona. Estas hormonas ejercen sus efectos andro y estrogénicos habituales a través de receptores de andrógenos y estrógenos, respectivamente^{81 82}.

Las glándulas suprarrenales son la fuente exclusiva de DHEA en mujeres, pero en los hombres hay también una pequeña contribución de los testículos. Su secreción está regulada por la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) y por otros factores de origen hipofisario^{83 84}.

La DHEA-S juega un papel biológico en muchos organismos y tiene varios posibles mecanismos de acción⁸⁵.

Los estudios para evaluar si existen receptores específicos de la DHEA han sido tema de interés durante más de 20 años. Unos cuantos han demostrado la existencia de proteínas en el hígado que se unen a este esteroide, pero la identidad bioquímica de estas proteínas no se ha esclarecido^{86 87}.

La mayor parte de las investigaciones llevadas a cabo hasta el día de hoy para identificar los mecanismos responsables de la acción de la DHEA se han centrado en los receptores de hormonas citosólicas / nucleares, ya que este es el principal mecanismo de acción de los esteroides, como se describió anteriormente para el receptor de estrógenos^{88 89}.

Hay otros cinco receptores aparte de los indicados con los cuales la DHEA y DHEA-S pueden interactuar in vitro, pero la importancia clínica de las interacciones con ellos no se conoce. Algunos de dichos receptores son: el complejo formado por el ácido gamma-aminobutírico (GABA)/benzodiazepina⁹⁰, un receptor excitatorio del aminoácido N-metil-aspartato⁹¹, un receptor nuclear llamado CAR⁹² etc...

4.- Relación de la DHEA-S con las variables antropométricas

Al igual que otros esteroides sexuales, la DHEA-S ejerce diferentes acciones sobre el tejido adiposo. La DHEA-S impide el desarrollo de los adipocitos y su diferenciación en tejido celular adiposo⁹³. Se ha sugerido que la DHEA tiene un efecto anti-obesidad, sin embargo el mecanismo subyacente no está del todo claro aunque se han propuesto varios⁹⁴:

- inhibición de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa hepática
- alteraciones en el ciclo de deacilación-reacilación e incremento de la oxidación peroxisomal de ácidos grasos
- efectos sobre la respiración mitocondrial hepática (que resultan de un menor almacenamiento de la energía en forma de grasa)

Estudios en animales

Algunos estudios llevados a cabo en ratones han demostrado que la administración de DHEA-S puede reducir tanto la acumulación de masa grasa⁹⁵ como el tamaño de los adipocitos³².

Otros estudios han demostrado también los efectos beneficiosos de la DHEA-S sobre la obesidad en animales, dónde parece que reduce el peso y la grasa corporal⁹⁶. Los resultados de estos estudios indican que la DHEA-S afecta a varias vías del metabolismo de los carbohidratos y de las grasas, algunas de las cuales son únicas para el hígado⁹⁷.

En modelos de ratas Zucker macho se mostró que el efecto antiobesidad de la DHEA era muy similar en las ratas castradas y en las no castradas sugiriendo así que el efecto antiobesidad que ejerce la DHEA es por ella misma y no por su conversión en testosterona en los

testículos⁹⁸. Sin embargo otro estudio llevado a cabo por Mauriège P *et al* en ratas hembra demostró que los efectos antiobesidad de la DHEA son dependientes del estatus ovárico del animal^{99 100}.

Estudios en humanos

Los resultados de los estudios que analizan la relación de la DHEA-S con la obesidad son contradictorios. En algunos los niveles de DHEA-S se ven aumentados¹⁰¹, llevando a los autores a concluir que la DHEA no protege frente a la obesidad. Mientras que otros trabajos han encontrado niveles de esta hormona normales¹⁰² y bajos¹⁰³ en mujeres con obesidad. La disminución en la síntesis de DHEA-S que ocurre con la edad da lugar a una disminución en la formación periférica de los esteroides sexuales activos derivados de ella, lo cual puede conducir al desarrollo de obesidad, además de resistencia a la insulina (RI) y pérdida de masa muscular¹⁰⁴.

Gómez-Santos C *et al* ¹⁰⁵ observaron que el tratamiento con DHEA-S provoca pérdida de peso en mujeres obesas ya que reduce la adipogénesis, favorece la movilización lipídica y reduce el almacenamiento de grasas. Además en mujeres postmenopáusicas se ven mejorados varios parámetros del síndrome metabólico como la circunferencia de la cintura, la glucosa y la presión arterial, mientras que en las mujeres premenopáusicas el efecto de la DHEA-S se limita a la pérdida de peso.

En hombres obesos sometidos durante dos meses a dieta para perder peso se ha observado un aumento de los niveles de DHEA-S¹⁰⁶.

La DHEA-S contribuye a las diferencias en la distribución de la grasa corporal entre sexos, probablemente debido a una diferente acción lipolítica. Hernández-Morante J *et al* demostraron *in vitro* que la DHEA-S estimula la lipólisis en la grasa subcutánea en las mujeres obesas y en la grasa visceral en los hombres obesos¹⁰⁷.

Garaulet M *et al* en un estudio clínico observaron que las concentraciones plasmáticas de 17- β -estradiol y DHEA-S correlacionaban de manera negativa y significativa con los parámetros antropométricos de distribución de la grasa corporal, en las mujeres,

mientras que en los hombres, los valores plasmáticos de la androstenediona y DHEA-S correlacionaban de forma positiva y significativa con el tamaño de los adipocitos de la grasa subcutánea¹⁰⁸.

Sin embargo, los resultados de estudios epidemiológicos que relacionan la DHEA-S con la grasa abdominal son cuanto menos contradictorios. Así, Haffner et al¹⁰⁹ ¹¹⁰ en estudios en hombres de mediana edad, encontraron que los niveles de DHEA-S estaban significativa e inversamente relacionados con la obesidad abdominal al igual que Tchernof A et al¹¹¹ y Pasquali R et al¹¹² que en hombres adultos obesos demostraron que los niveles de DHEA-S se veían disminuidos. En distintos estudios en mujeres¹¹³ ¹¹⁴ se ha encontrado una relación inversa entre los niveles plasmáticos de DHEA-S y los marcadores de obesidad periférica. Mientras que otro estudio realizado en mujeres obesas postmenopáusicas demuestra que los niveles de DHEA-S correlacionan positivamente con el índice cintura/cadera¹¹⁵.

La adrenarquia es un término que describe el incremento de la producción adrenocortical de andrógenos en niños y niñas¹¹⁶. Generalmente comienza a los 6-7 años, significativamente antes de que aparezcan los signos físicos de la pubertad. Éste proceso está caracterizado por un incremento de la zona reticular adrenal y un aumento de los niveles de esteroides incluyendo la DHEA, la DHEA-S y la androstenediona. Estudios longitudinales han mostrado que, independientemente de la edad y de los determinantes genéticos, el incremento individual del índice de masa corporal es un factor que afecta marcadamente al aumento de la secreción de andrógenos adrenales durante la adrenarquia¹¹⁷, de hecho los andrógenos adrenales están incrementados en niños con obesidad¹¹⁸ ¹¹⁹.

La relación entre los niveles de DHEA-S y la obesidad e IMC en niños, se ha observado en algunos estudios¹²⁰ ¹²¹, aunque otros estudios consideran que la edad es un factor contundente en esta asociación¹¹⁷ ¹²².

4.1. DHEA-S y peso al nacer

Estudios como el "Dietary Intervention Study in Children"¹²³ así como otros tantos^{124 125 126}, han asociado un bajo peso al nacer con una edad de la menarquia más temprana en las niñas.

Una mala nutrición en el útero puede tener efectos permanentes sobre la actividad del sistema endocrino; en particular, un crecimiento intrauterino restringido que conlleve a un bajo peso al nacer puede estar asociado con un riesgo incrementado de insulinoresistencia¹²⁷ en el adulto, intolerancia a la glucosa¹²⁸, diabetes tipo 2¹²⁹, dislipidemia e hipertensión¹³⁰. Los mecanismos no son del todo bien conocidos, pero una actividad alterada del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal podría estar involucrada en el desarrollo de estas anormalidades^{131 132 133}

De forma consistente con la hipótesis de la "programación metabólica"¹³⁴, algunos estudios han sugerido que la relación entre un peso bajo al nacer con una adrearquia prematura condiciona a una posterior obesidad, sobre todo cuando se asocia a un rápido aumento de peso en la infancia más temprana^{135 136}.

Los niveles plasmáticos de DHEA-S son considerados como un marcador de la adrearquia y del posterior estado hormonal del individuo⁶⁶. Generalmente el momento de la adrearquia surge cuando los niveles de DHEA-S son mayores de 40 µg/dL. Se ha postulado que las concentraciones de DHEA-S en niños pueden estar relacionadas con el crecimiento fetal y que éste puede ser un modulador de la adrearquia¹³⁷. Existen numerosos estudios en población infantil que han relacionado un peso bajo para la edad gestacional con concentraciones elevadas de DHEA-S^{138 139 140}.

5. DHEA-S y perfil lipídico

El proceso de envejecimiento aumenta tanto los niveles plasmáticos de lípidos como la susceptibilidad a la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL)^{141 142}. Estudios in vitro han demostrado que la DHEA-S ejerce una acción antioxidativa frente a la peroxidación lipídica de los tejidos^{143 144}. Sin embargo los resultados de los estudios que han examinado la relación entre la DHEA-S y los niveles plasmáticos de lípidos y lipoproteínas son algo inconsistentes^{145 146 147 148}.

La asociación más fuerte se ha encontrado entre los niveles plasmáticos de DHEA-S y los niveles de triglicéridos, habiendo encontrado algunos autores una relación negativa y significativa entre estos dos parámetros tanto en hombres¹⁴⁹ como en mujeres¹⁵⁰ y en ancianos de ambos sexos¹⁵¹.

Otros estudios han relacionado niveles elevados de DHEA-S con un perfil lipídico favorable a través de una asociación positiva con las concentraciones de C-HDL y una asociación negativa con los niveles de CT en hombres^{152 153} y en mujeres^{154 155}.

En los hombres, las asociaciones de la DHEA-S con las variables del perfil lipídico son similares a la asociación de la testosterona con dichas variables¹⁴⁷. Es conocido que niveles elevados de andrógenos parecen estar relacionados con un perfil lipoproteico favorable en los hombres¹⁵⁶ lo cual apoya la hipótesis de que la DHEA puede estar relacionada con el perfil lipídico a través de su conversión en esteroides androgénicos, que son los moduladores del tejido adiposo, tejido muscular y sensibilidad a la insulina¹⁵⁷. En varios estudios en hombres se ha demostrado que niveles plasmáticos bajos de testosterona, DHEA-S y SHBG estaban relacionados con un perfil lipídico desfavorable^{158 159}.

También en mujeres los cambios hormonales a lo largo de la vida, tanto de DHEA-S como de testosterona y estrógenos, pueden estar afectando a la evolución en las concentraciones de los niveles de lípidos y del contenido graso del cuerpo¹⁶⁰.

Por otra parte existe aun cierta controversia sobre los efectos específicos de la suplementación de DHEA-S sobre el perfil lipídico ya que algunos autores no han sido capaces de encontrar ningún efecto sobre el colesterol, los triglicéridos o la sensibilidad a la insulina^{161 162} mientras otros han visto que la administración de DHEA provocaba la reducción de los niveles de CT y LDL tanto en hombres²⁷ cómo en mujeres^{163 164}.

6. DHEA-S e insulina

Se ha sugerido que la DHEA y la DHEA-S actúan como moduladores del metabolismo de la glucosa. En un estudio llevado a cabo en mujeres premenopáusicas sanas se observó que los niveles de glucosa en ayunas correlacionaban de forma negativa con los niveles de DHEA-S^{165 166}. Sin embargo, los estudios que analizan la relación entre la DHEA-S y la sensibilidad a la insulina muestran hallazgos contradictorios, así Haffner et al¹⁶² Ebeling et al¹⁶⁷ y D Mino et al¹⁶⁸ en estudios de hombres sanos encontraron una asociación negativa entre los niveles de DHEA-S y los niveles de insulina, mientras que otros estudios no han encontrado ninguna asociación^{169 170 171}.

Casson PR et al¹⁷² en un estudio con 29 mujeres postmenopáusicas observaron una mejoría en la sensibilidad a la insulina después de tratamiento con DHEA-S lo cual podría reflejar sus efectos intracrinicos, argumento apoyado por la estrecha asociación vista entre la sensibilidad a la insulina y los andrógenos adrenales derivados de la DHEA-S como la dihidrotestosterona y androstenediona.

La acción protectora de la DHEA-S frente a la resistencia a la insulina podría ser el resultado de la combinación de diferentes

mecanismos, como su efecto secundario para reducir el acúmulo de grasa, contrarrestar la acción de los glucocorticoides o provocar un estímulo directo en la captación de glucosa^{173 174}.

Los estudios que han valorado el efecto de la suplementación de DHEA-S sobre la sensibilidad a la insulina muestran resultados inconsistentes^{175 176 177 178 179 180 181 182}.

Un ensayo clínico de 2004 llevado a cabo por Villareal DT et al¹⁷⁴ demostró que un tratamiento durante 6 meses con 50 mg/día de DHEA, en 56 hombres y mujeres de edad avanzada, inducía un significativo descenso en la grasa abdominal y un aumento en la sensibilidad a la insulina, sin variar los niveles de glucosa. Recientemente, Weiss EP et al¹⁸³ ampliando este mismo estudio a 12 meses de tratamiento con DHEA-S, y a un total de 57 hombres y 68 mujeres de edades comprendidas entre los 65 y 75 años, concluyó que la administración de DHEA-S mejora significativamente la tolerancia a la glucosa, disminuye los niveles de triglicéridos plasmáticos y reduce las concentraciones plasmáticas de citoquinas inflamatorias como el TNF- α y la IL-6.

Estudios dirigidos a determinar la posible influencia de la edad sobre la acción de la insulina mostraron que la relación negativa entre la edad y la acción de la insulina estaban relacionadas con la concentración plasmática de DHEA-S¹⁸⁴.

Las concentraciones de insulina plasmática en ayunas se incrementan durante la infancia¹⁸⁵, siendo este aumento particularmente pronunciado durante la pubertad¹⁸⁶. De igual forma, existen estudios que encuentran que los niños puberales son menos sensibles a la insulina que los niños prepuberales o adultos^{187 188}. Como se ha descrito en varios trabajos^{189 190} los niveles de DHEA-S se incrementan durante la prepubertad, durante la transición a la pubertad y en la pubertad, hasta valores máximos durante el comienzo de la vida adulta (25-30 años).

En niños varones la resistencia a la insulina se incrementa más en el comienzo de la pubertad que en la pubertad avanzada y este cambio podría estar relacionado con la modulación de la esteroidogénesis andrógena adrenal durante la transición entre la prepubertad avanzada y el comienzo de la pubertad¹⁹¹. En las niñas, cambios en la sensibilidad a la insulina podrían estar asociados a la síntesis de andrógenos adrenales tanto en la prepubertad como en la pubertad, así como, durante la transición de una a otra¹⁹². Cambios en el IMC sugieren que la adiposidad podría ser un mediador de éste efecto, tal y como se ha demostrado durante la edad avanzada¹⁸³.

En poblaciones postpuberales¹⁹³ así como en otras poblaciones adolescentes con diabetes mellitus tipo 1¹⁹⁴ no se han encontrado diferencias en los niveles plasmáticos de DHEA-S en comparación con grupos controles.

7.- Determinantes genéticos relacionados con la sulfotransferasa SULT2A1

El aumento de la producción de esteroides está claramente asociado con una serie de cambios intraadrenales en la expresión de enzimas esteroideogénicas necesarias para la producción de DHEA y DHEA-S así como una expansión de la zona reticular adrenal (ZR). A medida que la adrenarquía tiene lugar la ZR expresa grandes niveles de citocromo b5 (CYB5) y esteroide sulfotransferasa (SULT2A1)¹⁹⁵.

La SULT2A1 media la reacción enzimática que cataliza la sulfonación de la DHEA en DHEA-S. La reacción inversa es llevada a cabo por un esteroide sulfatasa (STS), enzima que se expresa en otros muchos tejidos a parte de la corteza adrenal.

Las sulfotransferasas (SULTs) (fig.4) constituyen una superfamilia proteica que contienen al menos 6 clases distintas basadas en sus secuencias aminoacídicas^{196 197}. Las propiedades enzimáticas de las SULTs han sido objeto de estudio, especialmente aquellas de las familias SULT1 y SULT2¹⁹⁸. Los miembros de las familias SULT1 tienen preferencia por los substratos fenólicos mientras que los miembros de la familia SULT2 catalizan la sulfonación de los monohidróxidos de los ácidos biliares y otros substratos alcohólicos e hidroxisteroideos^{199 200 201}, como androsterona, alopregnenolona y DHEA^{202 196}.

La SULT2A1 es un determinante activo del metabolismo hormonal en el hígado adulto aunque su actividad enzimática ha sido previamente detectada en muestras de hígado fetal²⁰³ y en muestras de placenta²⁰⁴.

El gen humano de la sulfotransferasa SULT2A1 está localizado en el cromosoma 19, en la banda citogenética 19q 13.3 (fig 5) Se ha descrito que variaciones en la expresión del gen SULT2A1 se asocian con variaciones en la concentración plasmática de DHEA-S²⁰⁵.

Aunque escasos, existen estudios que muestran que polimorfismos en el gen de la SULT2A1 están implicados en los niveles de DHEA-S. Así, en un metanálisis de discriminación alélica masiva en población caucásica se observó que el alelo menos frecuente del polimorfismo rs2637125 del gen SULT2A1 se encontraba negativamente correlacionado con los niveles de DHEA-S en mujeres²⁰⁶. Otro estudio identificó 3 polimorfismos para la SULT2A1 localizados solamente en población afroamericana, que estaban asociados con una disminución en los niveles plasmáticos de andrógenos²⁰⁷.

Goodarzi et al²⁰⁸ en un estudio en mujeres con ovario poliquístico observó que el alelo menos frecuente del polimorfismo rs182420 del gen SULT2A1 se asociaba con bajas concentraciones plasmáticas de DHEA-S. Sin embargo un estudio reciente en niños finlandeses²⁰⁹ ha demostrado que este polimorfismo (rs182420) en el gen de la SULT2A1 no se asociaba con niveles de DHEA-S.

A parte de este estudio que incluía niños sanos, en la literatura no hemos encontrado otros estudios en niños.

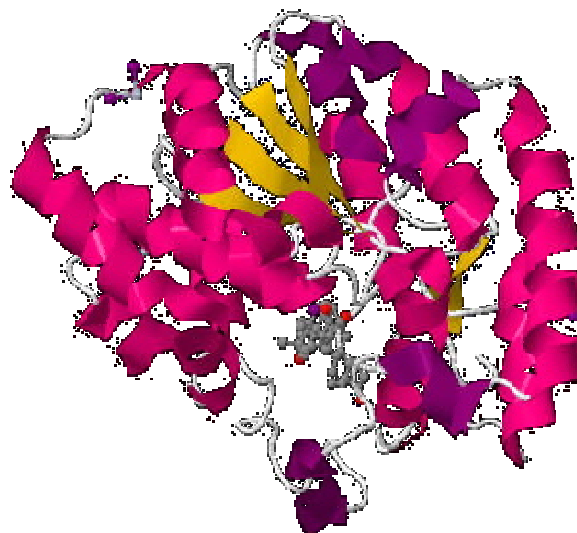


Figura 4. Reconstrucción tridimensional de la estructura terciaria de la molécula sulfotransferasa

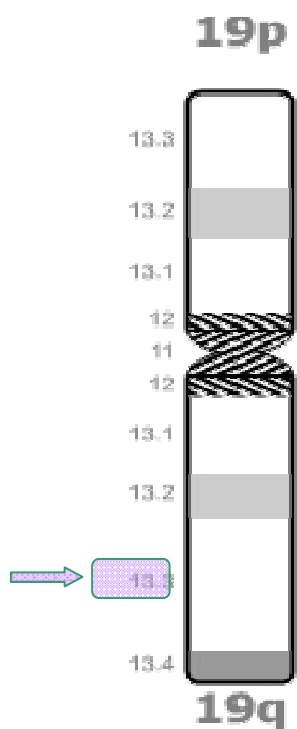


Figura 5. Cromosoma 19 humano y localización del gen SULT2A1

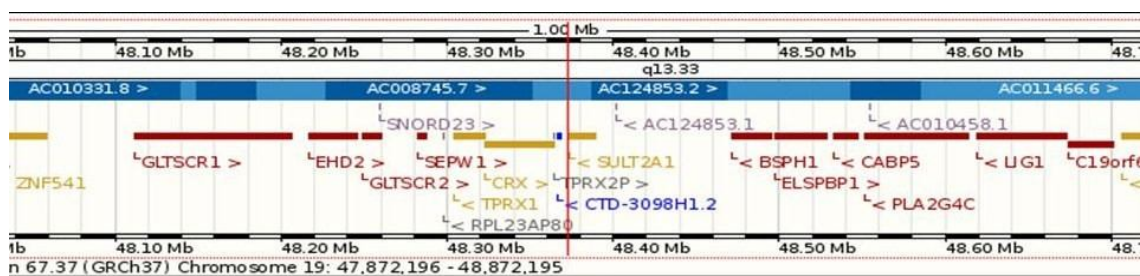


Figura 6. Localización del gen SULT2A1

Hipótesis y Objetivos



Hipótesis

La dehidroepiandrosterona sulfato (DHEA-S) es la precursora de los esteroides sexuales que se asocian a los cambios metabólicos que tienen lugar durante la adolescencia, de modo que los niveles de la DHEA-S podrían estar relacionados con las variaciones en las variables antropométricas y lipídicas que se producen a ésta edad.

La DHEA-S es el resultado de la sulfatación de la DHEA, proceso regulado por la enzima sulfotransferasa (SULT2A1). Polimorfismos en el gen de la SULT2A1 podrían relacionarse con las variaciones en los niveles plasmáticos de la DHEA-S.

Objetivos

- 1.- Describir los niveles de DHEA-S en adolescentes españoles en función del sexo y la edad.
- 2.- Analizar la relación de los niveles de DHEA-S con la presencia de obesidad y con las variables antropométricas en esta población adolescente, así como la influencia del peso al nacer en los niveles plasmáticos de DHEA-S en esta etapa.
- 3.- Analizar la posible asociación de la DHEA-S con las alteraciones metabólicas relacionadas con la obesidad (niveles de lípidos, resistencia a la insulina...) en estos niños de 12 a 16 años.
- 4.- Estudiar la posible relación de los polimorfismos rs 2637125 y rs 182420 en el gen de la sulfotransferasa 2A1 (SULT2A1) con los niveles de DHEA-S, las variables antropométricas, el perfil lipídico y la resistencia a la insulina.
- 5.- Analizar el tracking de los niveles de DHEA-S, evaluando la relación entre las concentraciones de DHEA-S de los niños a los 6-8 años y a los 12-16 años.

Material y Métodos



1. Muestra

1.1. Población

La población del estudio la constituyen el total de niños de edad puberal integrantes del segundo corte del Estudio Cuatro Provincias (4P)^{210 211}. Este estudio fue diseñado para evaluar diferentes factores de riesgo cardiovascular en niños de cuatro provincias españolas con distintas tasas de mortalidad cardiovascular y en su segundo corte, incluye niños de 12 a 16 años de edad, escolarizados en las provincias de Madrid, Orense, Cádiz y Murcia, sin ningún tipo de patología aguda o crónica que pueda afectar a las variables de interés.

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de la Fundación Jiménez Díaz. El conjunto de la investigación cumple las salvaguardias éticas de la Delegación de Helsinki, y sus posteriores actualizaciones, y la legislación española sobre investigación clínica en humanos.

1.2. Procedimiento de muestreo

Se trata de un estudio transversal, en el que en el primer corte de estudio, los niños se seleccionaron mediante un muestreo aleatorio, estratificado y por conglomerados, en el que las unidades de análisis de referencia eran los centros públicos, concertados o privados de las provincias participantes. El muestreo tuvo dos etapas; en la primera, se seleccionaron los centros escolares, a partir de los datos de la Delegación Provincial de Educación que incluían el total de los colegios de cada provincia participante. En la segunda, se seleccionaron los alumnos. En el segundo corte, volvimos a estudiar a los niños incluidos en el primer corte del estudio que aceptaron participar, incorporando nuevos niños de edades similares, hasta completar el tamaño muestral necesario.

Los colegios fueron seleccionados de manera que aseguraran la representación de diferencias socio-económicas.

2. Obtención de la muestra

Los colaboradores de las distintas provincias (Prof. Angel Gil en Madrid, Dr. Ovidio Fernández en Orense, Dr. Alipio Mangas y Dr. Alfonso Macías en Cádiz y Dr. Alberto Torres y D^a. M^aJosé Bayonas en Murcia) se encargaron de solicitar la autorización a la Delegación Provincial de Educación y al responsable del Área de Salud o equivalentes autonómicos. Una vez obtenido este permiso contactamos con las direcciones y asociaciones de padres de alumnos de los centros elegidos y se les explicó el sentido y finalidad del estudio. Una vez recibida la autorización por parte del colegio realizamos una presentación oral ante los padres de los niños seleccionados como candidatos al estudio, donde les entregamos una carta informativa y una autorización que tenían que firmar para que sus hijos participaran en el estudio.

A los colegios se desplazaron cinco ATS encargados de realizar las extracciones de sangre, y un equipo de campo entrenado en la toma de medidas físicas a los niños, que se encargaba asimismo de la manipulación y correcto almacenaje de las muestras de sangre hasta su llegada al laboratorio de referencia.

Para ser incluido en el estudio, cada niño debía presentar una autorización firmada por el padre, madre o responsable legal. La extracción se llevó a cabo a primera hora de la mañana y tras 12 horas de ayuno. A cada niño se le extraía sangre, con material desechable, por venopunción en dos tubos Venoject® (Terumo) de 7 ml, uno seco y el otro conteniendo EDTA-K₃ como anticoagulante.

Desde el momento de la extracción hasta su traslado al laboratorio para su análisis, las muestras permanecieron en hielo.

Las muestras se centrifugaron durante 20 minutos a 3000 rpm y 4°C. Tras la centrifugación se obtenía, en la fracción inferior, las células que se trasvasaron a un tubo de vidrio reforzado que se

congelaba a -70°C para posteriormente extraer el DNA, y en la fracción superior el suero o el plasma, que se alicuotaron para las determinaciones bioquímicas.

En las provincias de Orense, Cádiz y Murcia las muestras se centrifugaron inmediatamente después de la extracción y las alícuotas fueron guardadas en criotubos, congelándolas a -70°C hasta su transporte, en nieve carbónica, a nuestro laboratorio en Madrid.

3. Recogida de información sobre las medidas físicas y la presión arterial.

De cada niño se recogió el peso y la talla en el momento de la extracción, y a partir de estas medidas se calculó el IMC (Peso en Kg/talla² en m). Las medidas se realizaron con los niños vestidos con ropa ligera y sin zapatos. La talla se midió hasta el último milímetro con un estadiómetro portátil y el peso se midió hasta el último 0,1 kg con una balanza electrónica digital homologada. Así mismo se solicitó a los padres información sobre el peso del niño al nacer que constaba en su certificado de nacimiento. Se excluyeron del estudio aquellos niños con patologías o enfermedades crónicas.

Nuestra población fue categorizada en función de su IMC, edad y sexo en niños obesos, niños con sobrepeso y niños con normopeso de acuerdo a los puntos de corte propuestos por Cole et al²¹² en una síntesis de estudios internacionales y asumidos por el IOTF (International Obesity Task Force) (*Tabla 1*)

Tabla 1. Puntos de corte de IMC (kg/m²) para sobrepeso y obesidad en pediatría de acuerdo a Cole et al ²¹²

EDAD	SOBREPESO		OBESIDAD	
	NIÑOS Kg/m ²	NIÑAS Kg/m ²	NIÑOS Kg/m ²	NIÑAS Kg/m ²
6	17,6	17,3	19,8	19,7
6,5	17,7	17,5	20,2	20,1
7	17,9	17,8	20,6	20,5
7,5	18,2	18,0	21,1	21,0
8	18,4	18,3	21,6	21,6
8,5	18,8	18,7	22,2	22,2
9	19,1	19,1	22,8	22,8
9,5	19,5	19,5	23,4	23,5
10	19,8	19,9	24,0	24,1
10,5	20,2	20,3	24,6	24,8
11	20,6	20,7	25,1	25,4
11,5	20,9	21,2	25,6	26,1
12	21,2	21,7	26,0	26,7
12,5	21,6	22,1	26,4	27,2
13	21,9	22,5	26,8	27,8
13,5	22,3	23,0	27,2	28,2
14	22,6	23,3	27,6	28,6
14,5	23,0	23,7	28,0	28,9
15	23,3	23,9	28,3	29,1
15,5	23,6	24,2	28,6	29,3
16	23,9	24,4	28,9	29,4
16,5	24,2	24,5	29,1	29,6

Índices Antropométricos: La circunferencia de la cintura se midió en la línea media entre el margen costal inferior y la cresta ilíaca a nivel de la espina ilíaca anterosuperior (con estimación de 0,5 cm). La circunferencia de la cadera se determinó a nivel de los trocánteres mayores. A partir de ambos se calculó el índice cintura-cadera (ICC).

Presión arterial: se realizaron 3 tomas en cada niño con esfigmomanómetro de mercurio (Diplomat Presameter Riester Model) y manguitos adecuados a la circunferencia del brazo siguiendo directrices estandarizadas de organismos internacionales).

Dada la naturaleza del estudio no se pudo recoger información sobre el estadio puberal.

4. Determinaciones Bioquímicas

4.1. Determinaciones del perfil lipídico

Las determinaciones de los niveles de lípidos fueron realizadas en el Servicio de Bioquímica-Investigación del Hospital Ramón y Cajal en Madrid.

El plasma recogido se utilizó para las siguientes determinaciones lipídicas:

-El **CT** se valoró mediante técnica enzimática colesterol esterasa/colesterol oxidasa (Menarini) y posterior medición directa por absorción a 500 nm ²¹³

-La medición del **C-HDL** se realizó en el sobrenadante que resultó al precipitar, añadiendo al plasma ácido fosfotúngstico-cloruro de magnesio²¹⁴, las lipoproteínas que contienen apo B y apo E (LDL y VLDL)²¹⁵, del plasma total. Tras la precipitación, el C-HDL se determinó en el sobrenadante mediante la misma técnica enzimática que el CT.

-Los **TG** se determinaron mediante método enzimático lipasa/oxidasa ²¹⁶(Menarini).

-El **C-LDL** se calculó mediante la fórmula de Friedewald²¹⁷

$$C-LDL = CT - TG/5 - C-HDL$$

Siempre que el valor de TG fuese inferior a 300 mg/dl.

Las determinaciones de la **Apo AI y la Apo B** se realizaron por métodos inmunoquímicos con anticuerpos específicos para la parte proteica de la molécula²¹⁸.

Todas las determinaciones lipídicas se llevaron a cabo en un autoanalizador Array-1000. La variabilidad analítica se evaluó mediante un control comercial (Precinorm y Precipath de Roche). Los coeficientes de variación interensayo fueron de 1.4% para el colesterol, 1.7% para los TG, 5.5% para la Apo AI y de 4.8% para la Apo B.

Los ácidos grasos libres (**AGL**) se determinaron mediante el método enzimático/colorimétrico ACS-ACOD (Waco Nefa-C kit)

4.2. Determinaciones hormonales

Las determinaciones hormonales se realizaron en el Laboratorio de Lípidos del IIS-Fundación Jiménez Díaz.

La medición de la **dehidroepiandrosterona-sulfato (DHEA-S)**, se realizó mediante una técnica de radioinmunoensayo (RIA) (Immunotech SAS, France. Ref. IM0729), consistente en la competición entre un antígeno radioactivo marcado con Yodo 125 (I^{125}) y otro no radioactivo por una cantidad fija de lugares de unión a anticuerpos. La cantidad de la hormona marcada con I^{125} unida al anticuerpo es inversamente proporcional a la concentración de hormona sin marcar presente en el suero/plasma. La separación del antígeno libre y el unido a anticuerpos se realiza mediante decantación o aspiración de los tubos recubiertos de anticuerpo. El I^{125} emite una radiación tipo gamma, la cantidad de esta radiación se cuantifica en un contador gamma y de este modo se obtiene la concentración de la hormona que contiene el suero/plasma de cada individuo (Figura 7). El límite de detección del ensayo fue de $2\mu\text{g/dl}$.

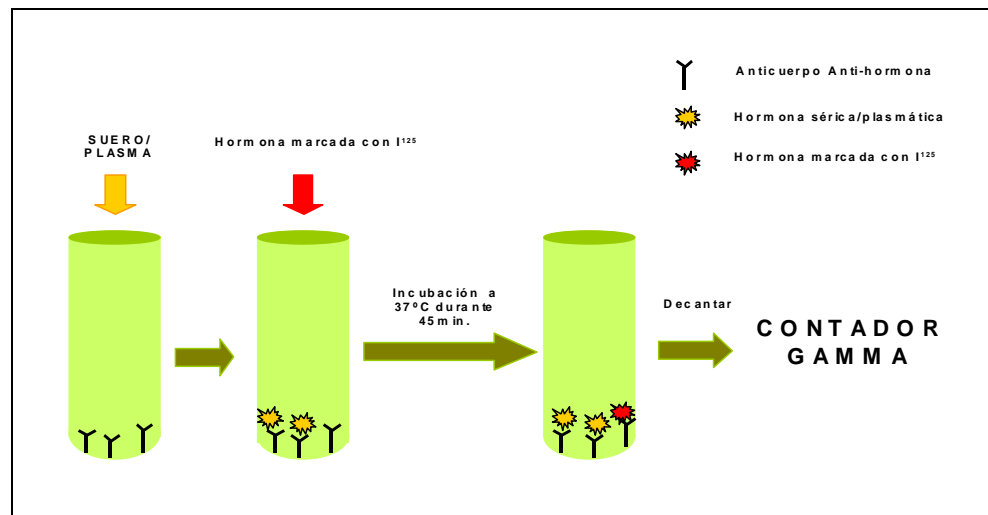


Figura 7. Determinación de DHEA-S, testosterona y estradiol mediante RIA

La medición de la **testosterona** y el **estradiol** se llevó a cabo por ésta misma técnica de RIA (Diagnostic Systems Laboratories, Texas. Ref. DSL-4000 para la testosterona y Ref. DSL-43100 para el estradiol)

La medición de la **insulina**, **SHBG** y las **gonadotropinas (FSH y LH)** se realizó mediante un ensayo inmunoradiométrico (IRMA) de dos lugares de unión (Cisbio Ref. Bi-Ins-IRMA para la insulina) (Inmunotech Ref. IM3532 para la SHBG) (Ref. DSL-4700 para la FSH)

El IRMA es un ensayo no competitivo en el que el analito analizado se une a dos anticuerpos entre los que queda comprendido a modo de "sandwich". El primer anticuerpo monoclonal se encuentra fijado a la pared interna de los tubos. El otro anticuerpo también monoclonal se marca radiactivamente con I^{125} para que pueda ser detectado. El analito presente en las muestras problema, los estándares y los controles se une a ambos anticuerpos formando un complejo tipo "sandwich". El reactivo que no se haya unido se elimina mediante decantación y lavado de los tubos. El I^{125} emite una radiación tipo gamma, la cantidad de esta radiación se cuantifica en un contador gamma y de este modo se obtiene la concentración de hormona que contiene el suero de cada individuo (Figura 8).

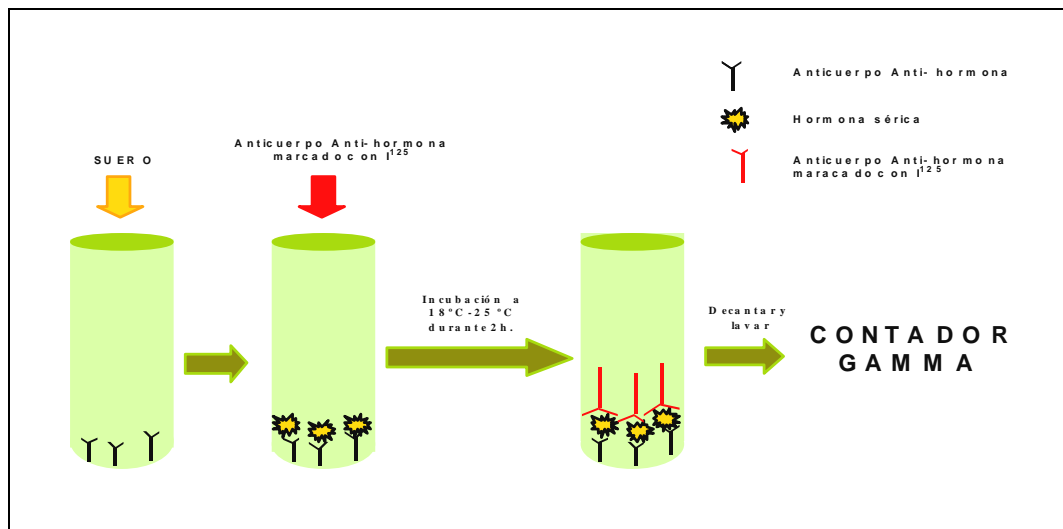


Figura 8. Determinación de insulina, SHBG, FSH y LH mediante IRMA.

Los niveles de **leptina** se determinaron mediante un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) tipo Sandwich (EIA-2395, DRG Instruments GmbH, Germany). Los pocillos de la placa están cubiertos de un anticuerpo monoclonal específico para la leptina, tras añadir las muestras de suero se añade el anticuerpo secundario biotinilado, específico para un antígeno de la molécula de leptina. La biotina reacciona con un conjugado de estreptavidina peroxidasa que produce una reacción colorimétrica al reaccionar con el sustrato, proporcional a la concentración de hormona en la muestra. El rango de determinación está entre 0-100ng/mL, los coeficientes de variación inter e intraensayo del kit eran menores del 8.6% y del 6.9% respectivamente y el límite de detección de 1ng/mL.

Los niveles de **adiponectina** se determinaron con un kit comercial de ELISA tipo Sandwich (E09, Mediagnost GmbH, Reutlingen, Germany) mediante el empleo de dos anticuerpos de alta afinidad, en un primer paso la adiponectina se une al primer anticuerpo que recubre los pocillos y posteriormente se une a un anticuerpo biotinilado anti-adiponectina, la biotina reacciona con un

conjugado de estreptavidina peroxidasa que produce una reacción colorimétrica al reaccionar con el sustrato, proporcional a la concentración de hormona en la muestra. El rango de determinación está entre 0-100ng/mL, los coeficientes de variación inter e intraensayo del kit eran menores del 6.7% y del 4.7% respectivamente y el límite de detección de 0.6ng/mL.

A partir de los valores de la leptina y la adiponectina calculamos el **cociente leptina/adiponectina**.

5. Determinaciones genéticas

5.1. Obtención y cuantificación del ADN

El ADN se obtuvo de glóbulos blancos de sangre periférica, utilizando un tampón de fuerza iónica baja que rompe la pared celular por ósmosis, permitiendo la obtención de los núcleos, y de estos el material genético.

Los aproximadamente 3 ml de células que se obtuvieron después de separar el plasma de la muestra, se distribuyeron en tubos de polipropileno de 50 ml, se llenaron con tampón Montreal-Baltimore Express 1, se equilibraron, si fue necesario, con el mismo tampón, se taparon y se mezclaron.

Se centrifugaron en una centrífuga de alta velocidad Beckman Avanti J-25 (rotor JA-20), durante 15 minutos a 13000 rpm y 4°C. Una vez terminada la centrifugación se decantaron, cuidando de no arrastrar el precipitado. Este precipitado se resuspendió en 4 ml de tampón Montreal 2, vertiendo los 4 ml en un homogeneizador, se homogeneizó la muestra hasta obtener una solución homogénea que se depositó otra vez en el tubo de 50 ml. Se añadió 100 µl de dodecil sulfato sódico-sal disódica (SDS) 20 % (Genaxis), se mezcló y se incubó unos minutos en baño a 65°C, se añadió 150 µl de proteinasa K 10 mg/ml (Promega), dejándolo incubar toda la noche en baño a 65°C con agitación.

Tras la digestión con SDS y proteinasa K se precipitaron las proteínas añadiendo al lisado de 4 ml, 1.5 ml de solución saturada de NaCl, agitando, equilibrando los tubos y centrifugando durante 15 minutos a 10000 rpm a temperatura ambiente. Se recogió el sobrenadante con una pipeta Pasteur y se transfirió a otro tubo de vidrio con tapón. En el nuevo tubo se precipitó el DNA añadiendo dos volúmenes de etanol absoluto 100% (Merck) frío por uno de sobrenadante, se invirtió con suavidad hasta que se visualizó la hebra de DNA. Se recogió el DNA con una pipeta Pasteur y se transfirió a un eppendorf con 500 μ l de Tris-EDTA (TE) 1X, se dejó disolver el DNA durante toda la noche en un agitador orbital antes de cuantificar.

La concentración de DNA se midió utilizando un espectrofotómetro Beckman DU 640B.

Los ácidos nucleicos absorben a 260 nm y las proteínas a 280 nm, y con la medida de estas dos absorbancias podemos calcular la concentración de ambos. Para considerar que un DNA está suficientemente purificado, la relación Abs_{260}/Abs_{280} debía estar entre 1.8 y 2.

El programa nos midió la absorbancia a 260 nm, debida a los ácidos nucleicos, y a 280 nm, debida a las proteínas y en función de estos valores nos calculó la concentración tanto de proteínas como de ácidos nucleicos. Para calcular la concentración real de nuestra muestra, teníamos que multiplicar la concentración por el factor de dilución.

5.2. Determinación de los polimorfismos rs2637125 y rs182420 del gen de la sulfotransferasa SULT2A1

El polimorfismo *rs2637125* consiste en un cambio de base de adenina por guanina.

El polimorfismo *rs182420* consiste en un cambio de base de timina por citosina.

Estos polimorfismos se determinaron mediante técnica PCR real time en un termociclador 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Para su determinación se emplearon ensayos de discriminación alélica Taqman® (ID C_16267062_20 e ID C_9716099_10) que consisten en dos sondas para la detección del alelo salvaje y el alelo mutado marcadas con los fluorocromos VIC® FAM™ respectivamente.

Se emplearon 20ng de ADN, 900 nM de oligonucleótidos, 200 nM de las sondas y Taqman® Genotyping master mix (Applied Biosystems)2X. Las condiciones de amplificación fueron las recomendadas por ABI: 40 ciclos que comienzan en una desnaturalización a 95°C durante 10 min, hibridación a 92 °C durante 15 sec y posterior extensión a 60°C durante 1 min. Los genotipos fueron asignados automáticamente tras la detección de la fluorescencia de cada muestra con el software específico como se muestra en la figura 8 (Holland, 1991).

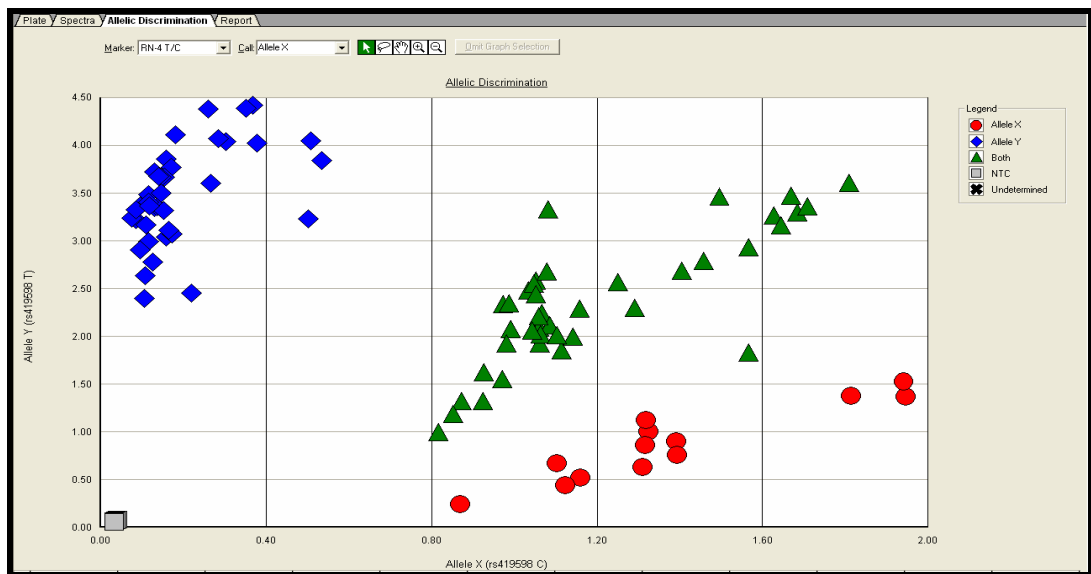


Figura 9. Mapa de discriminación alélica. Los rombos representan el genotipo homocigoto para el alelo Y, los triángulos el genotipo heterocigoto y los círculos a los individuos homocigotos para el alelo X. Los cuadros grises son los controles negativos (NTC).

6. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa estadístico SPSS 9.0 para Windows.

Se realizó un análisis descriptivo de las variables, en el que se calcularon medias y desviación estándar en el caso de las variables cuantitativas y los porcentajes en el caso de las variables categóricas.

La normalidad de las variables se comprobó mediante el test de Kolmogorov-Smirnov y gráficas de distribución de frecuencias.

El contraste de las diferencias entre sexos, entre niños con peso normal o sobrepeso, entre genotipos o entre medias de variables antropométricas y bioquímicas, se realizó mediante el test T de Student para las variables cuantitativas paramétricas y mediante test Mann-Whitney U para las variables no paramétricas.

Las correlaciones entre variables antropométricas, hormonales y bioquímicas se evaluaron determinando los coeficientes de correlación de Spearman.

Las frecuencias de alelos y genotipos se determinaron mediante método de contaje.

Utilizamos el test Chi cuadrado para comparar prevalencias de obesidad entre sexos y para comparar la distribución genotípica de los polimorfismos en función de peso normal *versus* exceso de peso.

Utilizamos ANOVA para comparar las variables bioquímicas, hormonales y antropométricas en función de la edad o de los distintos genotipos. Cuando encontramos diferencias significativas, utilizamos un test Tukey para comparar cada par de grupos, siempre que las varianzas fueran homogéneas. En el caso de que las varianzas no fueran homogéneas, se utilizó un test T2 de Tamhane.

El estudio del *tracking* (mantenimiento o predictibilidad) de la DHEA-S se ha realizado:

- Analizando la correlación de la DHEA-S en ambas edades mediante el coeficiente de correlación para variables pareadas.
- Realizando un análisis de regresión lineal múltiple para determinar el porcentaje de variación de los niveles de DHEA-S a los 12-16 años atribuible a los niveles de DHEA-S a los 6-8 años de edad.
- Análisis de persistencia, calculando los terciles de DHEA-S y evaluando el porcentaje de niños y niñas que persistieron en el mismo tercil desde los 6-8 años hasta los 12-16 años.

Resultados



1. Descripción de la muestra

La población de nuestro estudio incluyó 812 niños de edades comprendidas entre los 12 y los 16 años, de los cuales 383 eran niños (47,2%) y 429 niñas (52,8%). La edad media de la población fue de $14,3 \pm 1,1$ años, sin diferencias entre sexos (Tabla 1).

1.1. Descripción de las variables antropométricas

Los valores medios del peso y la talla actuales, y del peso al nacer fueron significativamente más elevados en los niños que en las niñas ($p < 0,000$). No se observaron diferencias significativas en los valores medios de IMC.

Tabla 1: Niveles medios \pm desviación estándar de las variables antropométricas en el total de la población, en niños y en niñas

	Total (n=812)	Niños (n=383)	Niñas (n=429)	p
Edad (años)	14,3 \pm 1,1	14,3 \pm 1,1	14,3 \pm 1,2	n.s.
Peso (kg)	58,9 \pm 12,7	61,8\pm14,3	56,2\pm10,4	0,000
Talla (m)	1,64 \pm 0,08	1,67\pm0,09	1,61\pm0,06	0,000
IMC (kg/m ²)	21,7 \pm 3,6	21,8 \pm 3,9	21,7 \pm 3,5	n.s.
Peso al nacer (kg)	3,3 \pm 0,5	3,4\pm0,5	3,2\pm0,5	0,000

p: T-test

Como se muestra en la tabla 2, la prevalencia de obesidad en nuestra población fue de un 5,5% siendo del 7,0% en niños y del 4,2% en las niñas.

La prevalencia de sobrepeso en nuestros niños fue del 22,5 % (24,9% y 20,0% en niños y niñas respectivamente).

Tabla 2: Prevalencia [n (%)] de sobrepeso y obesidad en la población de acuerdo a la clasificación de Cole et al²¹²

	Total (n=811)	Niños (n=382)	Niñas (n=429)
Normopeso	585(72,0%)	260(68,1%)	325(75,8%)
Sobrepeso	181(22,5%)	95(24,9%)	86(20,0%)
Obesos	45 (5,5%)	27(7,0%)	18(4,2%)

La prevalencia de exceso de peso (sobrepeso+obesos) (figura 10) fue significativamente mayor en los niños que en las niñas (*Test Chi Cuadrado* ($p=0,02$))

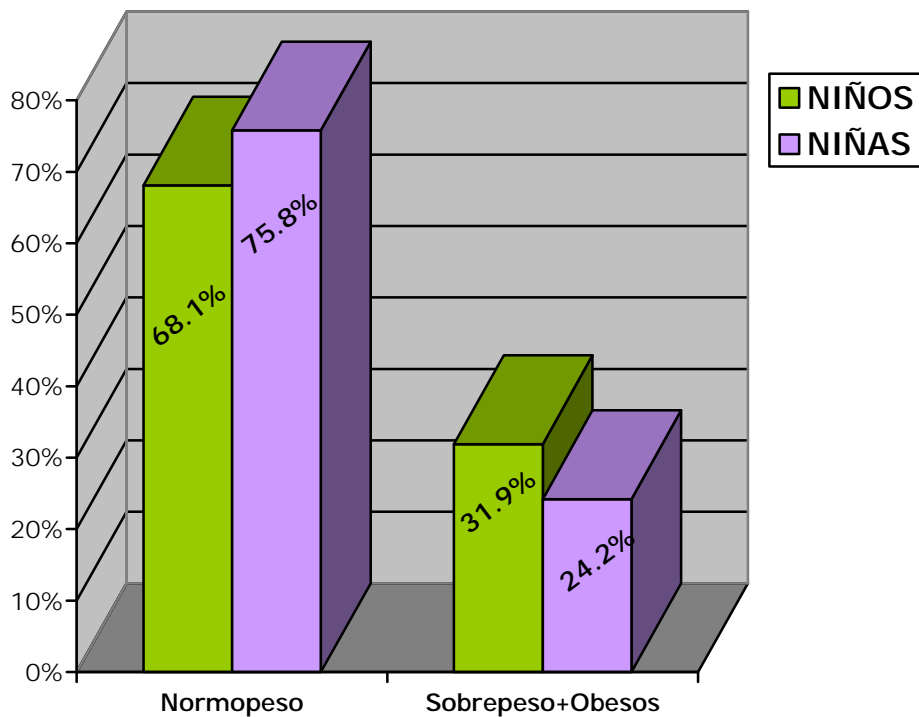


Figura 10. Prevalencia de exceso de peso en la población

2. Análisis descriptivo de los niveles de DHEA-S

2.1. Niveles plasmáticos de DHEA-S por sexos

Los valores de DHEA-S en nuestra población se encuentran comprendidos entre un valor mínimo de 8,54 $\mu\text{g/dl}$ y un valor máximo de 805,7 $\mu\text{g/dl}$, siendo su media de $158,0 \pm 100,4$ $\mu\text{g/dl}$ y el valor de la mediana de 135,7. Los niveles medios de DHEA-S no presentaron diferencias significativas entre niños y niñas (tabla 3).

Tabla 3. Niveles DHEA-S ($\mu\text{g/dl}$) expresados como media \pm D.S. en ambos sexos

Total (n=812)	Niños (n=383)	Niñas (n=429)	p
158,0 \pm 100,4	162,9 \pm 104,3	157,5 \pm 96,6	n.s.

p: Mann-Whitney test (n. s. = no significativa)

2.2. Percentiles de niveles de DHEA-S

La tabla 4 muestra los valores de los percentiles de DHEA-S. Observamos que no existen diferencias significativas entre sexos en ninguno de los percentiles.

Tabla 4. Valores correspondientes a los percentiles de DHEA-S ($\mu\text{g/dl}$) en el grupo total y en ambos sexos

	P ₁₀	P ₂₅	P ₅₀	P ₇₅	P ₉₀
Total (812)	56,2	89,4	136,2	202,6	291,5
Niños (383)	56,6	89,9	139,6	205,6	303,5
Niñas (429)	55,5	89,0	131,3	199,6	285,6

2.3. Niveles de DHEA-S por edad

En nuestra población observamos que los niveles plasmáticos de DHEA-S son significativamente más bajos en los niños de 12 años que en los niños de 13, 14, 15 y 16 años. En las niñas, encontramos que los niveles de DHEA-S a los 12 años son significativamente más bajos que a los 14 y 16 años.

Tabla 5: Niveles de DHEA-S ($\mu\text{g}/\text{dl}$) (media \pm desviación estándar) por grupos de edad y sexo

EDAD (años)	12 (n=33)	13 (n=54)	14 (n=110)	15 (n=130)	16 (n=56)	p
Media \pm DS	106,5 \pm 65,4	184,7 \pm 116,6	173,8 \pm 120,4	155,5 \pm 97,8	165,1 \pm 86,3	12-13** 12-14** 12-15**
Mediana	84,15	153,3	139,3	132,9	152,4	12-16*
EDAD (años)	12 (n=28)	13 (n=51)	14 (n=161)	15 (n=131)	16 (n=58)	p
Media \pm DS	108,1 \pm 72,4	146,4 \pm 102,7	167,0 \pm 103,2	140,7 \pm 75,0	180,3 \pm 108,8	12-14**
Mediana	83,7	102,7	140,5	122,3	137,8	12-16**

* $p \leq 0,05$ ** $p \leq 0,01$ p: test Anova/ post-hoc: Tamhane

No observamos diferencias significativas entre sexos en los niveles de DHEA-S en ninguno de los grupos de edad.

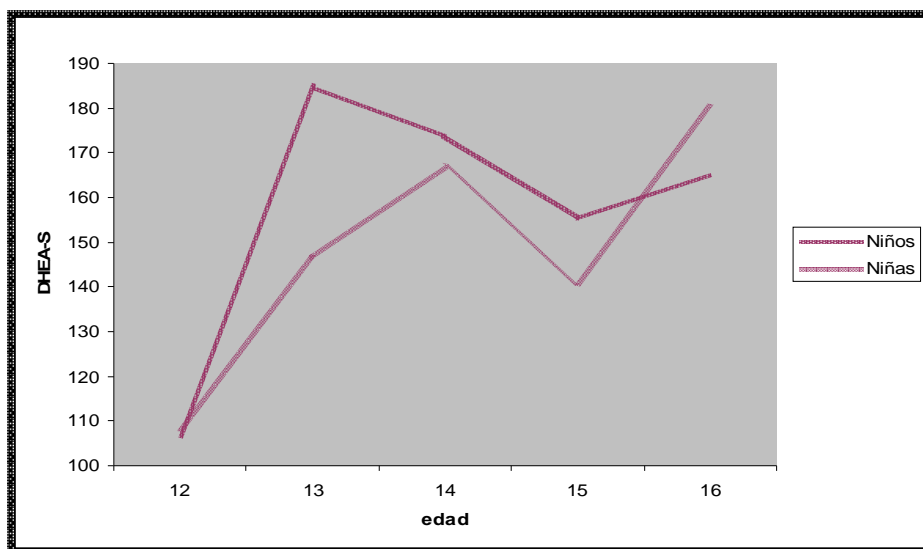


Figura 11. Niveles de DHEA-S por sexo y edad

3. DHEA-S y variables antropométricas

3.1. Niveles de DHEA-S por categorías de obesidad

Al analizar en niños y niñas los niveles de DHEA-S, tanto en adolescentes con peso normal como en los que presentan sobrepeso u obesidad, observamos que los niveles de DHEA-S son significativamente más elevados en niños y niñas con exceso de peso (tabla 6).

Tabla 6. Niveles DHEA-S ($\mu\text{g}/\text{dl}$) en adolescentes con normopeso y exceso de peso

	Normopeso	Sobrepeso+Obesos	p
Niños	151,0 \pm 90,7	184,5 \pm 128,1	**
Niñas	145,8 \pm 88,4	181,6 \pm 112,3	**

** $p \leq 0,01$ p: test Mann-Whitney

3.2. Análisis de correlación entre los niveles de DHEA-S y las variables antropométricas

Los niveles de DHEA-S ($\mu\text{g}/\text{dl}$) correlacionan de forma positiva y significativa ($p \leq 0,01$) con el peso, el IMC, circunferencia del brazo y la circunferencia de la cadera, tanto en el total de la población como en ambos sexos por separado. En las niñas también observamos correlación de la DHEA-S con el perímetro de la cintura. No observamos relación de los niveles de DHEA-S con el peso al nacer (tabla 7).

Al hacer un análisis de correlación de Spearman entre los niveles de DHEA-S y el peso e IMC por edades observamos que la correlación es independiente de la edad tanto en niños como en niñas (tabla 8).

Tabla 7. Coeficientes de correlación de Spearman entre los niveles de la DHEA-S y las variables antropométricas

	DHEA-S ($\mu\text{g/dl}$)		
	Total	Niños	Niñas
Peso al nacer (kg)	-,050	-,072	-,030
Peso (kg)	,165**	,151**	,179**
Talla (m)	,060	,085	,030
IMC (kg/m^2)	,168**	,146**	,189**
Circ. Brazo (cm)	,169**	,145**	,188**
Circ. Cintura (cm)	,097*	,084	,105*
Circ. Cadera (cm)	,180**	,150**	,210**
Indice C/C	-,050	-,071	-,057

** $p \leq 0,01$ * $p \leq 0,05$

Tabla 8. Coeficientes de correlación de Spearman entre los niveles de la DHEA-S y el peso e IMC por edades.

	NIÑOS				
	12 (n=33)	13 (n=54)	14 (n=110)	15 (n=130)	16 (n=56)
Peso (kg)	,306	-,030	,204*	,049	,190
IMC(kg/m^2)	,241	,021	,219*	,073	,175
	NIÑAS				
	12 (n=28)	13 (n=51)	14 (n=161)	15 (n=131)	16 (n=58)
Peso(kg)	,467*	,271*	,183*	,089	,069
IMC(kg/m^2)	,534**	,249	,167*	,140	,115

** $p \leq 0,01$ * $p \leq 0,05$

4. DHEA-S y perfil lipídico

Los valores medios tanto del colesterol total como de los niveles de colesterol HDL y LDL son significativamente superiores en las niñas que en los niños del estudio ($p \leq 0,01$) (tabla 9)

Tabla 9. Valores medios \pm desviación estándar de las variables lipídicas en el total de la población, en niños y en niñas

	Total (n=812)	Niños (n=385)	Niñas (n=429)	p
CT (mg/dl)	166,9 \pm 28,5	162,3\pm28,3	171,0\pm28,1	0,000
TG (mg/dl)	77,9 \pm 31,5	79,8 \pm 35,6	76,2 \pm 27,2	n.s.
C-HDL (mg/dl)	52,5 \pm 14,4	50,5\pm14,7	54,3\pm13,9	0,000
Apo AI (mg/dl)	146,4 \pm 25,7	145,0 \pm 26,9	147,6 \pm 24,5	n.s.
C-LDL (mg/dl)	98,7 \pm 25,4	95,9\pm24,9	101,3\pm25,6	0,002
Apo B (mg/dl)	70,3 \pm 15,8	69,6 \pm 16,2	71,0 \pm 15,3	n.s.

p: T-test para variables paramétricas; test Mann-Whitney para variables no paramétricas

Al analizar la correlación de la DHEA-S con el perfil lipídico observamos que no existe ninguna correlación significativa entre los niveles de DHEA-S y ninguna de las variables lipídicas estudiadas.

Tabla 10. Coeficientes de correlación de Spearman de la DHEA-S con las variables lipídicas en el total de la población y por sexos

	DHEA-S ($\mu\text{g/dl}$)		
	Total	Niños	Niñas
CT	-,061	-,060	-,049
TG	-,036	,018	-,089
C-HDL	-,064	-,080	-,053
APO-AI	-,027	-,029	-,015
C-LDL	-,039	-,034	-,035
APO-B	-,051	,002	-,089

4.1. Correlaciones del IMC con el perfil lipídico por terciles de DHEA-S

En las niñas observamos que la correlación del IMC con el C-HDL y la Apo AI se da únicamente en los terciles altos de DHEA-S (tabla 11). En los niños esta correlación es independiente de los niveles de DHEA-S

La correlación del IMC con la apo B es dependiente de la concentración de DHEA-S en ambos sexos.

Tabla 11. Análisis de correlación del índice de masa corporal con las variables bioquímicas por terciles de DHEA-S en niñas

IMC			
NIÑAS	Tercil Bajo	Tercil Medio	Tercil Alto
CT (mg/dl)	-,016	-,007	,048
TG (mg/dl)	-,083	,193*	,030
C-HDL (mg/dl)	-,055	-,147	-,226**
Apo AI (mg/dl)	-,036	-,204*	-,203*
C-LDL (mg/dl)	,030	,056	,162
Apo B (mg/dl)	,047	,199*	,233**

**p≤0,01 *p≤0,05

Tabla 12. Análisis de correlación del índice de masa corporal con las variables bioquímicas por terciles de DHEA-S en niños

IMC			
NIÑOS	Tercil Bajo	Tercil Medio	Tercil Alto
CT (mg/dl)	-,039	-,064	-,014
TG (mg/dl)	,060	,244**	,168**
C-HDL (mg/dl)	-,162**	-,228**	-,242**
Apo AI(mg/dl)	-,166**	-,201**	-,210**
C-LDL (mg/dl)	,016	,018	,071
Apo B (mg/dl)	,075	,117	,177**

**p≤0,01 *p≤0,05

5. DHEA-S y resistencia a la insulina

5.1. Valores medios de las variables relacionadas con la resistencia a la insulina

Los niveles de glucosa son significativamente superiores en los niños que en las niñas ($p < 0,001$) mientras que los valores de insulina, índice HOMA y niveles de ácidos grasos libres no presentan diferencias significativas entre sexos (tabla 13).

Tabla 13. Valores medios \pm desviación estándar de las variables relacionadas con la resistencia a la insulina en ambos sexos

	Total (n=812)	Niños (n=383)	Niñas (n=429)	p
Glucosa (mg/dl)	90,7 \pm 9,3	92,6\pm9,5	89,0\pm8,7	0.000
Insulina (μ U/ml)	8,7 \pm 6,1	8,7 \pm 6,9	8,6 \pm 5,3	n.s.
HOMA	1,9 \pm 1,4	2,0 \pm 1,6	1,9 \pm 1,3	n.s.
AGL (mEq/l)	0,44 \pm 0,2	0,43 \pm 0,2	0,45 \pm 0,2	n.s.

p: T-test

5.2. Valores medios de las variables relacionadas con la resistencia a la insulina por edades

El análisis descriptivo de los valores de glucosa, insulina, HOMA y ácidos grasos libres por edades (tabla 14) nos muestra que los valores de insulina e índice HOMA son significativamente más altos a los 16 años que a cualquier otra edad, en el grupo de los niños. En las niñas sin embargo no encontramos diferencias significativas entre edades para estas variables.

Observamos un descenso progresivo en los niveles de AGL tanto en niños como en niñas, de hecho a los 16 años, los niveles de AGL son significativamente menores que a cualquier otra edad estudiada especialmente al comparar con los niveles de AGL a los 12 años.

En las niñas las diferencias en los niveles de AGL las encontramos principalmente entre el grupo de 12 años y el grupo de niñas con 15 y 16 años

Tabla 14. Valores medios \pm desviación estándar de las variables relacionadas con la resistencia a la insulina por edades en ambos sexos.

NIÑOS	12 (n=33)	13 (n=54)	14 (n=110)	15 (n=130)	16 (n=56)	p
Glucosa(mg/dl)	91,4 \pm 5,5	93,5 \pm 8,9	90,4 \pm 11,1	93,8 \pm 9,1	93,8 \pm 9,2	n.s.
Insulina (μ U/dl)	7,5 \pm 4,6	7,2 \pm 2,6	7,7 \pm 3,6	8,3 \pm 4,7	13,8 \pm 14,4	16-12* 16-13* 16-14* 16-15*
HOMA	1,73 \pm 1,04	1,66 \pm 0,67	1,75 \pm 0,98	1,91 \pm 1,12	3,16 \pm 3,26	16-12* 16-13* 16-14* 16-15*
A.G.L. (mEq/l)	0,54 \pm 0,22	0,50 \pm 0,17	0,42 \pm 0,22	0,43 \pm 0,19	0,33 \pm 0,14	12-14* 12-15* 12-16** 16-13* 16-14* 16-15*
NIÑAS	12 (n=28)	13 (n=51)	14 (n=161)	15 (n=131)	16 (n=58)	p
Glucosa(mg/dl)	89,3 \pm 11,2	88,7 \pm 7,0	89,1 \pm 8,6	88,7 \pm 8,2	89,5 \pm 10,3	n.s.
Insulina (μ U/dl)	10,5 \pm 8,1	8,0 \pm 3,2	8,1 \pm 3,9	8,5 \pm 5,0	10,1 \pm 8,4	n.s.
HOMA	2,19 \pm 1,42	1,73 \pm 0,72	1,77 \pm 0,89	1,84 \pm 1,06	2,31 \pm 2,42	n.s.
A.G.L.(mEq/l)	0,58 \pm 0,22	0,49 \pm 0,21	0,46 \pm 0,19	0,40 \pm 0,18	0,41 \pm 0,22	12-15** 12-16**

** $p \leq 0,01$

* $p \leq 0,05$

5.3. Análisis de la correlación de los niveles de DHEA-S con las variables relacionadas con la resistencia a insulina

Al hacer un análisis de correlación de la DHEA-S con glucosa, insulina, índice HOMA y ácidos grasos libres a cada edad y ajustando por peso, observamos que en los niños los niveles de DHEA-S correlacionan con los AGL a partir de los 12 años y en todas las edades estudiadas. Sin embargo en las niñas esta correlación entre la DHEA-S y los AGL la encontramos a los 12 y 13 años pero se pierde en los siguientes rangos de edad.

No observamos correlación entre los niveles de DHEA-S y la insulina e índice HOMA a ninguna edad ni en niños ni en niñas.

Tabla 15. Coeficientes de correlación entre los niveles de DHEA-S y las variables relacionadas con la resistencia a la insulina, por grupos de edad en ambos sexos

DHEA-S					
NIÑOS	12 (32)	13 (59)	14 (114)	15 (135)	16 (56)
Glucosa	,329	-,085	-,156	-,113	-,184
Insulina	-,004	,132	-,008	-,003	-,198
HOMA	,026	,082	-,120	-,041	-,205
AGL	,145	,325*	,257**	,149*	,307*
NIÑAS	12 (28)	13 (55)	14 (160)	15 (138)	16 (60)
Glucosa	,167	-,058	-,129	-,127	-,018
Insulina	-,056	,093	,185	,117	,051
HOMA	-,013	,085	,133	,108	-,047
AGL	,316*	,261*	,081	,097	,033

* $p \leq 0,05$ ** $p \leq 0,01$

En ambos sexos las correlaciones del IMC con la insulina y el HOMA son independientes de los niveles de DHEA-S (tablas 16 y 17)

Tabla 16. Análisis de correlación del índice de masa corporal con las variables relacionadas con la resistencia a insulina por terciles de DHEA-S en niños

IMC			
Niños	Tercil Bajo	Tercil Medio	Tercil Alto
Glucosa (mg/dl)	,250**	,081	,005
Insulina (μ U/dl)	,328**	,302**	,222**
HOMA	,317**	,282**	,220**
A.G.L. (mEq/l)	-,064	-,127*	,030

** $p \leq 0,01$ * $p \leq 0,05$

Tabla 17. Análisis de correlación del índice de masa corporal con las variables relacionadas con la resistencia a insulina por terciles de DHEA-S en niñas

IMC			
Niñas	Tercil Bajo	Tercil Medio	Tercil Alto
Glucosa (mg/dl)	,051	-,082	,069
Insulina (μ U/dl)	,283**	,205*	,275**
HOMA	,250**	,162	,266**
A.G.L. (mEq/l)	-,074	-,054	,023

** $p \leq 0,01$ * $p \leq 0,05$

6. DHEA-S y presión arterial

La presión arterial sistólica es significativamente superior en los niños ($p=0,01$) que en las niñas. No hallamos diferencias significativas en la presión arterial diastólica entre sexos a ésta edad.

Tabla 18. Valores medios \pm desviación estándar de la presión arterial sistólica y diastólica en ambos sexos

	Total (n=812)	Niños (n=383)	Niñas (n=429)	p
P.A. Sistólica (mm Hg)	11,4 \pm 1,3	11,7 \pm 1,3	11,1 \pm 1,2	0,000
P.A. Diastólica (mm Hg)	6,5 \pm 1,0	6,5 \pm 1,0	6,4 \pm 1,1	n.s.

p: T-test

Al analizar la presión arterial en función del tercil de DHEA-S, no encontramos diferencias significativas ni para la presión arterial sistólica ni para la diastólica en ninguno de los sexos.

Tabla 19. Valores medios de presión arterial por terciles de DHEA-S

		Tercil Bajo	Tercil Medio	Tercil Alto
P.A. Sistólica (mmHg)	Niños	11,7 \pm 1,2	11,6 \pm 1,3	11,8 \pm 1,3
	Niñas	11,1 \pm 1,2	11,2 \pm 1,1	11,1 \pm 1,3
P.A. Diástólica (mmHg)	Niños	6,5 \pm 1,0	6,5 \pm 1,0	6,5 \pm 1,0
	Niñas	6,4 \pm 1,0	6,4 \pm 1,0	6,4 \pm 1,1

Tras un análisis de correlación de Spearman hemos observado que los niveles de DHEA-S no presentan correlación con la presión arterial ni en los niños ni en las niñas (datos no mostrados).

7. DHEA-S y otras hormonas

7.1. DHEA-S y hormonas sexuales: FSH, LH, testosterona, estradiol y SHBG

En niños los niveles de DHEA-S correlacionan de forma positiva y significativa con la hormona folículo estimulante (FSH). En las niñas observamos que los niveles de DHEA-S correlacionan con la hormona luteinizante (LH).

En ambos sexos observamos una correlación positiva de la DHEA-S con los niveles de testosterona y estradiol y una correlación negativa con la SHBG.

Tabla 20. Coeficientes de correlación de Spearman de la DHEA-S con las hormonas sexuales por sexos

	DHEA-S ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	
	Niños	Niñas
FSH (mU/dl)	,141**	,066
LH (mU/dl)	-,020	,095*
Testosterona (ng/ml)	,111*	,367**
Estradiol (ng/ml)	,111*	,113*
SHBG (ng/ml)	-,160**	-,201**

** $p \leq 0,01$ * $p \leq 0,05$

Al realizar el análisis de correlación por categorías de obesidad (tabla 21) observamos que la correlación negativa de la DHEA-S con la SHBG sigue apareciendo en los niños y niñas con peso normal.

En las niñas con sobrepeso vemos una correlación positiva entre los niveles de DHEA-S y la FSH.

Tabla 21. Coeficientes de correlación de Spearman de la DHEA-S con las hormonas sexuales según la categoría de obesidad, en ambos sexos

DHEA-S ($\mu\text{g/dl}$)		
Niños	Normopeso (260)	Sob+Obesos (122)
FSH (mU/dl)	,200**	,039
LH (mU/dl)	,042	-,164
Testosterona (ng/ml)	,141*	,075
SHBG (ng/ml)	-,212**	-,013
DHEA-S ($\mu\text{g/dl}$)		
Niñas	Normopeso (325)	Sob+Obesos (104)
FSH (mU/dl)	,030	,201*
LH (mU/dl)	,100	,102
Estradiol (ng/ml)	,165**	-,019
SHBG (ng/ml)	-,199**	-,139

** $p \leq 0,01$ * $p \leq 0,05$

7.2. DHEA-S y adipoquinas: Leptina y adiponectina

No observamos correlaciones consistentes entre los niveles plasmáticos de DHEA-S y las adipoquinas ni en el grupo total ni por categorías de obesidad (tablas 22 y 23).

Tabla 22. Coeficientes de correlación de Spearman de la DHEA-S con las adipoquinas leptina y adiponectina

DHEA-S ($\mu\text{g/dl}$)			
	Total	Niños	Niñas
Leptina	,049	,063	,106*
Adiponectina	-,020	-,038	,016
Ratio Lep/AdipoQ	,029	,041	,053

Tabla 23: Coeficientes de correlación de Spearman de la DHEA-S con las adipocitoquinas: leptina y adiponectina, en ambos sexos por categorías de obesidad

DHEA-S ($\mu\text{g/dl}$)				
	Niños		Niñas	
	Normopeso	Sobrepeso	Normopeso	Sobrepeso
Leptina	,046	-,072	,085	-,003
Adiponectina	-,030	-,061	,013	,074

7.3. Relación de la DHEA-s con la edad de la menarquia en las niñas

Las niñas del estudio que no han tenido aun su primera regla tienen unos niveles de DHEA-S significativamente menores que las que si la tienen ($p=0,002$)

Tabla 24. Niveles de DHEA-S en las niñas con y sin menarquia

Menarquia	SI (n=331)	NO (n=44)	p
DHEA-S ($\mu\text{g/dl}$)	157,7\pm95,6	121,5\pm64,4	0,002

Haciendo terciles de los niveles de DHEA-S hemos observado que en el tercil más elevado de DHEA-S hay menos niñas que no tienen aún la menarquia, y al comparar éste dato con las niñas del tercil más bajo de DHEA-S observamos que la diferencia es significativa con una $p=0,036$.

8.- Tracking de la DHEA-S desde la infancia a la adolescencia.

8.1. Comparación de los niveles de DHEA-S a ambas edades.

Al comparar los niveles de DHEA-S por sexos entre los 6-8 años y los 12-16 años mediante un test para dos variables pareadas observamos que, obviamente, los niveles de DHEA-S son significativamente más elevados en ambos sexos, en el grupo de adolescentes (12-16 años) (tabla 25)

Tabla 25. Niveles de DHEA-S a los 6-8 años y a los 12-16 años de edad en ambos sexos

	Niños		Niñas	
	6-8 años	12-16 años	6-8 años	12-16 años
DHEAS($\mu\text{g/dl}$)	34,8\pm2,8	99,6\pm8,1^{***}	39,2\pm3,0	101,3\pm7,8^{***}

^{***} $p \leq 0,001$

8.2. Análisis de tracking entre los niveles de DHEA-S a los 6-8 años y a los 12-16 años

a) Análisis de correlación

Como observamos en la tabla 26 las correlaciones pareadas de los niveles de DHEA-S a los 6-8 años con los niveles de DHEA-S a los 12-16 años por sexos son muy significativas.

Tabla 26. Correlación de la DHEA-S en la edad prepuberal y en la adolescencia

	Total	Niños	Niñas
DHEA-S₆₋₈ DHEA-S₁₂₋₁₆	.457^{***}	.435^{***}	.474^{***}

^{***} $p \leq 0,001$

b) Análisis de regresión lineal para la DHEA-S

En un modelo de regresión lineal (Stepwise) para explicar variaciones en los niveles de DHEA-S a los 12-16 años hemos visto que los niveles de DHEA-S a los 6-8 años explican el 19% de los niveles de DHEA-S a los 12-16 años en niños. En las niñas éste porcentaje es ligeramente superior (22,5%). Ajustando el modelo de regresión por IMC los valores obtenidos son muy similares: 18,5 % en los niños y 27,4% en las niñas) de modo que los niveles de DHEA-S a los 12-16 años explicados por los niveles de DHEA-S de los niños a los 6-8 años, son independientes del IMC.

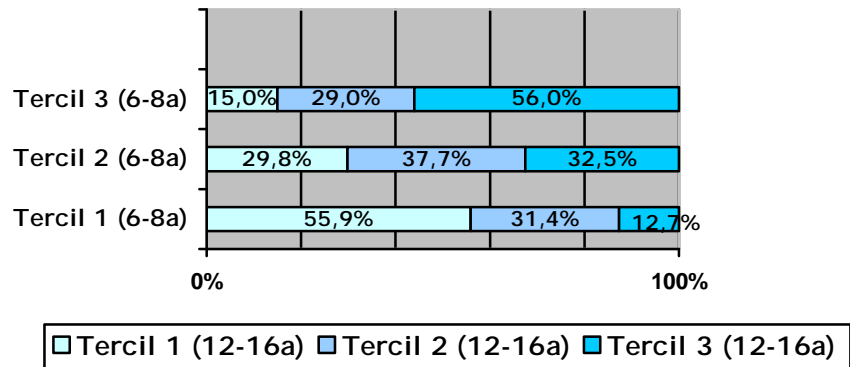
c) Análisis de persistencia en los terciles de DHEA-S

La figura 12 muestra el porcentaje de adolescentes dentro del grupo total que, estando a los 6-8 años en un tercil de DHEA-S, persisten en el mismo tercil o se desplazan de un tercil a otro desde la edad prepuberal (6-8 años) hasta la adolescencia (12-16 años).

De los que estaban en el tercil de DHEA-S más bajo, a la edad de 6-8 años, un 55,9% persiste en ese mismo tercil a los 12-16 años. De igual modo, más de la mitad de los niños que estaban en el tercil más elevado de DHEA-S a los 6-8 años persisten en ese mismo tercil elevado en la adolescencia.

Un 37,7% de los que estaban en el tercil medio a los 6-8 años persiste en el mismo tercil a los 12-16 años.

Figura 12: Porcentaje de persistencia o cambio de tercil de DHEA-S en el segundo corte (12-16 años). Población total n=320



Al comparar por sexos (gráficos 2 y 3) observamos que la persistencia en el tercil más alto y tercil medio son muy similares.

Figura 13: Porcentaje de persistencia o cambio de tercil de DHEA-S en el segundo corte (12-16 a) en niños (n=145)

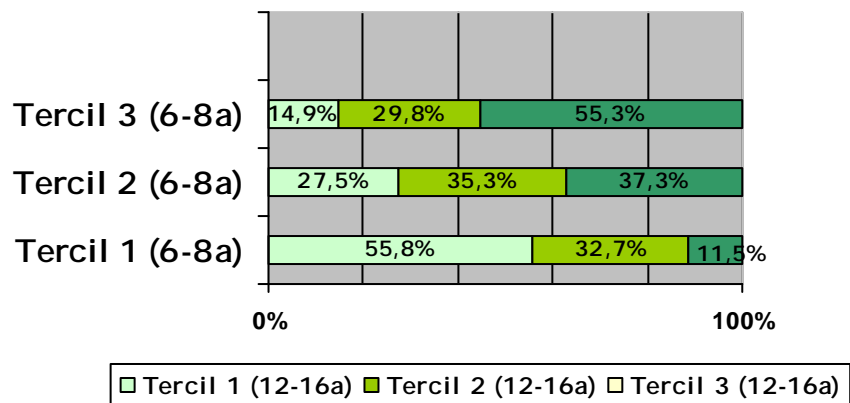
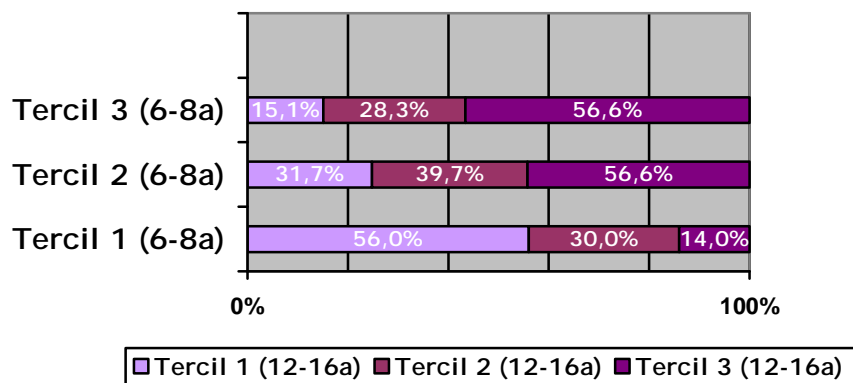


Figura 14: Porcentaje de persistencia o cambio de tercil de DHEA-S en el segundo corte (12-16 a) en niñas (n=175)



9. Polimorfismos en el gen de la sulfotransferasa 2A1 (SULT2A1)

El estudio de la relación de los polimorfismos rs2637125 y rs182420 en el gen de la sulfotransferasa SULT2A1, con los niveles de DHEA-S y las distintas variables antropométricas y bioquímicas, se ha llevado a cabo en los niños y niñas de 12 a 16 años de nuestro estudio, pero además se ha analizado en 888 niños integrantes del primer corte del estudio Cuatro Provincias, con edades comprendidas entre los 6 y 8 años.

9.1. Polimorfismo rs 2637125

En la tabla 27 se muestran las frecuencias de los genotipos y de los alelos para éste polimorfismo en el total de la población. Observamos que el alelo mutado T aparece en aproximadamente un 16,2% en nuestra población. Las distribuciones alélicas para el polimorfismo fueron consistentes con el equilibrio de Hardy-Weinberg.

Tabla 27. Frecuencias genotípicas y alélicas para el polimorfismo rs 2637125 del gen SULT2A1 en la población total

	Total (n=1567)
GG	1103 (70,4%)
GA	421 (26,9%)
AA	43 (2,7%)
G	83,8%
A	16,2%

10.1.1. Niveles de DHEA-S según el genotipo del polimorfismo rs 2637125

En la población adolescente (tabla 28) encontramos que en el grupo de los niños los niveles plasmáticos de DHEA-S son significativamente mayores en los no portadores del alelo A ($p=0,02$). Las diferencias de niveles de DHEA-S en las niñas de 12 a 16 años no alcanzan la significación estadística.

En los niños de edad prepuberal (6-8 años) donde los niveles de DHEA-S son más bajos que en población adolescente, no se observan diferencias en los niveles en ninguno de los dos sexos (tabla 29).

Tabla 28. Niveles de DHEA-S ($\mu\text{g/dl}$) en niños y niñas adolescentes según genotipo del polimorfismo rs 2637125 del gen *SULT2A1*

	Niños			Niñas		
	GG (271)	GA+AA (97)	p	GG (292)	GA+AA (108)	p
DHEA-S ($\mu\text{g/dl}$)	168,9±104,3	147,6±111,9	*	158,5±99,7	149,9±89,4	n.s.

P: Test Mann-Whitney * $p \leq 0,05$

Tabla 29. Niveles de DHEA-S ($\mu\text{g/dl}$) en niños y niñas de 6-8 años según genotipo del polimorfismo rs 2637125 del gen *SULT2A1*

	Niños			Niñas		
	GG (311)	GA+AA (143)	P	GG (296)	GA+AA (138)	p
DHEA-S ($\mu\text{g/dl}$)	35,0±37,2	36,5±37,9	n.s.	38,9±38,7	35,6±41,6	n.s.

P: Test Mann-Whitney

10.1.2. Relación del polimorfismo rs2637125 con las variables antropométricas

La distribución genotípica del polimorfismo en función de la categoría de obesidad se comparó mediante un test Chi cuadrado en ambas poblaciones en niños y niñas por separado. En las niñas del grupo de 12 a 16 años la diferencia de frecuencia del alelo A y entre los genotipos portadores de este alelo entre normopeso y sobrepeso es estadísticamente significativa ($p \leq 0,01$) siendo más frecuente en las niñas con peso normal.

Tabla 30. Polimorfismo rs 2637125 del gen de la SULT2A1 por categorías de obesidad en población de 12 a 16 años

Niños			Niñas		
	Normopeso (n=257)	Sobrepeso (n=121)		Normopeso (n=312)	Sobrepeso (n=104)
GG	187(72,8%)	93(76,9%)	GG	220(70,5%)	86 (82,7%)
GA+AA	70(27,2%)	28(23,1%)	GA+AA	92(29,5%)	18(17,3%)*
G	85,8%	88%	G	84,3%	90,9%
A	14,2%	12%	A	15,7%	9,1%*

* $X^2/p \leq 0,01$

Tabla 31. Polimorfismo rs 2637125 del gen de la SULT2A1 por categorías de obesidad en población de 6-8 años

Niños			Niñas		
	Normopeso (n=315)	Sobrepeso (n=101)		Normopeso (n=293)	Sobrepeso (n=118)
GG	215(68,3%)	76(75,2%)	GG	204(69,6%)	77(65,3%)
GA+AA	100(31,7%)	25(24,8%)	GA+AA	89(30,4%)	41(34,7%)
G	83,3%	87,1%	G	83,1%	80,5%
A	16,7%	12,9%	A	16,9%	19,5%

Al comparar los valores medios de las variables antropométricas estudiadas por genotipos, no hallamos diferencias significativas en ninguno de los dos cortes (tablas 32 y 33).

Tabla 32. Variables antropométricas en niños y niñas de 12 a 16 años según el genotipo del polimorfismo rs2637125

	Niños			Niñas		
	GG (n=280)	GA+AA (n=99)	p	GG (n=306)	GA+AA (n=110)	p
Peso (kg)	62,1±14,0	62,1±15,5	n.s.	56,8±10,8	55,0±9,9	n.s.
Talla (m)	1,7±0,1	1,7±0,1	n.s.	1,6±0,06	1,6±0,06	n.s.
IMC (kg/m ²)	21,8±3,7	21,9±4,4	n.s.	22,0±3,6	21,3±3,3	n.s.
Peso al nacer (kg)	3,4±0,6	3,5±0,5	n.s.	3,2±0,5	3,2±0,5	n.s.

p: T -Test

Tabla 33. Variables antropométricas en niños y niñas de 6-8 años según el genotipo del polimorfismo rs2637125

	Niños			Niñas		
	GG (n=299)	GA+AA (n=129)	p	GG (n=288)	GA+AA (n=134)	p
Peso (kg)	26,9±5,3	27,2±5,1	n.s.	26,4±5,3	26,6±5,3	n.s.
Talla (m)	1,2±0,06	1,3±0,07	n.s.	1,2±0,07	1,2±0,07	n.s.
IMC (kg/m ²)	16,9±2,5	16,8±2,1	n.s.	16,8±2,3	17,0±2,6	n.s.
Peso al nacer (kg)	3,4±0,5	3,4±0,5	n.s.	3,2±0,5	3,2±0,5	n.s.

p: T -Test

10.1.3. Relación del polimorfismo rs2637125 con el perfil lipídico y las variables relacionadas con la resistencia a la insulina

En la tabla 34 observamos el perfil lipídico y las variables relacionadas con la resistencia a insulina en ambos sexos según el genotipo en el grupo de 12 a 16 años. Observamos que en niños los niveles de Apo AI son significativamente superiores en los homocigotos no mutados (GG), diferencias que no se encuentran en las niñas dónde en cambio sí que observamos que los niveles de ApoB son mayores en las portadoras del alelo G en homocigosis (GG).

En los niños y niñas de 6 a 8 años de edad no encontramos diferencias significativas entre genotipos en ninguna de las variables lipídicas estudiadas (tabla 35)

Tabla 34. Perfil lipídico en niños y niñas de 12 a 16 años según el genotipo del polimorfismo rs2637125

	Niños			Niñas		
	GG (n=280)	GA+AA (n=99)	p	GG (n=288)	GA+AA (n=110)	p
CT(mg/dl)	161,8±28,4	160,0±27,4	n.s.	170,6±29,4	168,7±26,8	n.s.
TG(mg/dl)	79,4±35,6	80,1±36,6	n.s.	76,1±28,7	75,9±24,9	n.s.
CHDL(mg/dl)	50,5±14,8	49,1±13,5	n.s.	53,6±13,7	55,5±15,5	n.s.
ApoAI(mg/dl)	146,4±28,0	138,3±20,6	**	147,3±25,5	148,4±22,3	n.s.
CLDL(mg/dl)	95,4±25,2	94,9±22,8	n.s.	101,9±27,2	98,0±24,1	n.s.
Apo B(mg/dl)	69,4±16,3	68,8±15,3	n.s.	71,9±17,0	68,5±12,5	*

** $p \leq 0,01$ * $p \leq 0,05$

Tabla 35. Perfil lipídico en niños de 6 a 8 años según el genotipo del polimorfismo rs2637125

	Niños			Niñas		
	GG (n=299)	GA+AA (n=129)	p	GG (n=299)	GA+AA (n=129)	p
CT (mg/dl)	182,5±29,4	185,2±29,5	n.s.	183,6±27,7	182,5±28,2	n.s.
TG(mg/dl)	69,2±26,1	72,4±24,3	n.s.	72,1±26,3	72,6±26,5	n.s.
CHDL(mg/dl)	60,8±13,5	60,2±12,4	n.s.	59,6±13,0	58,5±12,6	n.s.
ApoAI(mg/dl)	138,9±19,0	137,6±19,1	n.s.	137,0±19,2	135,8±18,1	n.s.
CLDL(mg/dl)	107,8±28,7	110,5±28,3	n.s.	109,7±25,5	109,±27,3	n.s.
Apo B(mg/dl)	69,6±15,3	69,9±15,7	n.s.	71,2±15,1	71,2±14,9	n.s.

En ambos grupos de edad, los niveles de glucosa son mayores en el grupo portador del alelo A (GA+AA) (tablas 36 y 37). Ésta diferencia sólo alcanza la significación estadística en los niños de 12 a 16 años.

Tabla 36. Variables relacionadas con la resistencia a la insulina en niños y niñas de 12 a 16 años según el genotipo del polimorfismo rs2637125

	Niños			Niñas		
	GG (n=299)	GA+AA (n=129)	p	GG (n=299)	GA+AA (n=129)	p
Glucosa(mg/dl)	90,9±8,4	93,0±8,6	**	88,6±8,5	90,3±17,3	n.s.
Insulina(μU/ml)	3,4±2,4	3,7±2,7	n.s.	3,6±3,1	3,7±2,5	n.s.
HOMA	0,8±0,5	0,9±0,7	n.s.	0,8±0,08	0,8±0,05	n.s.
A.G.L(meq/L)	0,7±0,3	0,7±0,3	n.s.	0,7±0,03	0,7±0,03	n.s.

**p≤0,01 *p≤0,05

Tabla 37. Variables relacionadas con la resistencia a la insulina en niños y niñas de 6 a 8 años según el genotipo del polimorfismo rs2637125

	Niños			Niñas		
	GG (n=280)	GA+AA (n=99)	p	GG (n=288)	GA+AA (n=110)	p
Glucosa(mg/dl)	92,7±9,7	94,2±26,0	n.s.	88,9±8,6	89,5±9,0	n.s.
Insulina(μU/ml)	8,3±4,7	9,7±10,8	n.s.	8,9±5,2	8,4±6,4	n.s.
HOMA	1,9±1,1	2,4±3,4	n.s.	1,9±1,1	1,9±1,8	n.s.
A.G.L(meq/L)	0,4±0,2	0,4±0,2	n.s.	0,4±0,2	0,4±0,2	n.s.

10.1.4. Relación del polimorfismo rs2637125 con los niveles de hormonas sexuales

Al comparar los niveles de hormonas sexuales entre genotipos para el SNP rs2637125 encontramos que los niños y las niñas del grupo de 12 a 16 años portadores del alelo A (genotipos GA/AA) tienen niveles de SHBG superiores a los no portadores. Además en las niñas observamos también que los niveles de estradiol son significativamente mayores en las no portadoras de la mutación (genotipo GG) (tabla 38).

Al igual que en el grupo adolescente, en los niños y niñas de 6 a 8 años (tabla 39) los niveles de SHBG son superiores en los portadores del alelo menos frecuente A, sin embargo las diferencias no alcanzan la significación estadística. En los niveles de testosterona y estradiol no encontramos diferencias importantes entre ambos genotipos.

Tabla 38. Niveles de hormonas sexuales en niños y niñas de 12-16 años según el genotipo del polimorfismo rs2637125

Niños	GG	GA+AA	p
SHBG (ng/ml)	48,2±31,6	56,6±41,2	*
Testosterona(ng/ml)	5,1±2,9	4,6±2,7	n.s.
Estradiol (ng/ml)	38,3±17,1	37,3±19,9	n.s.
Niñas	GG	GA+AA	p
SHBG (ng/ml)	61,2±32,4	69,9±39,1	*
Testosterona(ng/ml)	1,0±0,007	0,9±0,006	n.s.
Estradiol (ng/ml)	98,1±86,1	76,3±63,1	**

**p<0,01 * p<0,05

Tabla 39. Niveles de hormonas sexuales en niños y niñas de 6 a 8 años según el genotipo del polimorfismo rs2637125

Niños	CC	CT+TT	p
SHBG (ng/ml)	117,2±68,3	157,3±157,1	n.s.
Testosterona(ng/ml)	0,2±0,001	0,2±0,01	n.s.
Estradiol (ng/ml)	27,7±17,3	32,7±32,5	n.s.
Niñas	CC	CT+TT	p
SHBG (ng/ml)	99,2±58,8	121,4±102,2	n.s.
Testosterona(ng/ml)	0,2±0,1	0,2±0,1	n.s.
Estradiol (ng/ml)	28,7±9,8	31,7±21,3	n.s.

10.2. Polimorfismo rs182420

Las frecuencias de los genotipos y de los alelos para éste polimorfismo se muestran en la tabla 40. Observamos que el alelo mutado C aparece en aproximadamente un 26,6% de nuestra población. Las distribuciones alélicas para el polimorfismo fueron consistentes con el equilibrio de Hardy-Weinberg.

Tabla 40. Frecuencias genotípicas y alélicas para el polimorfismo rs182420 del gen *SULT2A1* en la población total

	Total (n=1619)
TT	906(56,0%)
TC	564 (34,8%)
CC	149 (9,2%)
T	73,4%
C	26,6%

10.2.1. Niveles de DHEA-S según el genotipo del polimorfismo rs182420 del gen *SULT2A1* en ambos cortes de población

En la población adolescente la presencia del alelo mutado C se asocia con niveles más bajos de DHEA-S, alcanzando la significación estadística sólo en el caso de los niños (tabla 41). En el grupo de los niños de 6 a 8 años de edad no observamos diferencias entre los niveles de DHEA-S entre genotipos (tabla 42).

Tabla 41. Niveles de DHEA-S ($\mu\text{g}/\text{dl}$) a los 12-16 años según el genotipo del polimorfismo rs182420 del gen de la SULT2A1

Niños	TT (195)	TC (137)	CC (43)	p
DHEA-S	173,2 \pm 109,1	169,4 \pm 113,2	123,6 \pm 58,4	TT-TC** TC-CC*
Niñas	TT (225)	TC (141)	CC (51)	p
DHEA-S	164,8 \pm 102,2	146,1 \pm 96,1	152,2 \pm 93,4	n.s.

**p \leq 0,001 *p \leq 0,01

Tabla 42. Niveles de DHEA-S ($\mu\text{g}/\text{dl}$) a los 6- 8 años según el genotipo del polimorfismo rs182420 del gen de la SULT2A1

Niños	TT (280)	TC (171)	CC (48)	p
DHEA-S	33,8 \pm 35,1	35,4 \pm 40,1	30,2 \pm 29,3	n.s.
Niñas	TT (258)	TC (178)	CC (46)	p
DHEA-S	38,4 \pm 40,3	35,6 \pm 33,9	37,4 \pm 55,6	n.s.

10.2.2. Relación del polimorfismo rs182420 con las variables antropométricas

Al comparar las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo en niños clasificados según la categoría de obesidad (tablas 43 y 44) no se han encontrado diferencias significativas en la distribución de dichas frecuencias en ninguno de los sexos y en ninguno de los grupos de edad.

Tabla 43. Distribuciones genotípicas y alélicas del polimorfismo rs182420 por categorías de obesidad en población de 12 a 16 años

Niños			Niñas		
	Normopeso (n=259)	Sobrepeso (n=125)		Normopeso (n=313)	Sobrepeso (n=100)
TT	135(52,1%)	68 (54,4%)	TT	180(54,5%)	57 (53,3%)
TC	91(35,2%)	46 (36,8%)	TC	111(33,7%)	34 (31,8%)
CC	33 (12,7%)	11 (8,8%)	CC	39(11,8%)	16(15,0%)
T	69,7%	72,8%	T	71,4%	69,2%
C	30,3%	27,2%	C	28,6%	30,8%

Tabla 44. Distribuciones genotípicas y alélicas del polimorfismo rs182420 por categorías de obesidad en población de 6-8 años

Niños			Niñas		
	Normopeso (n=338)	Sobrepeso (n=114)		Normopeso (n=321)	Sobrepeso (n=134)
TT	191(56,5%)	66 (57,9%)	TT	175(54,5%)	71 (53,0%)
TC	115(34,0%)	40 (35,1%)	TC	109(34%)	53 (39,6%)
CC	32 (9,5%)	8 (7,0%)	CC	37(11,5%)	10 (7,4%)
T	73,5%	75,4%	T	71,5%	72,8%
C	26,5%	24,6%	C	28,5%	27,2%

No encontramos diferencias en el peso, la talla, el IMC ni el peso al nacer, entre los tres genotipos del polimorfismo rs182420, ni en los niños ni en las niñas de ninguno de los dos grupos estudiados (tablas 45 y 46).

Tabla 45. Variables antropométricas de los niños y niñas de 12 a 16 años según el genotipo del polimorfismo rs182420

Niños	TT (n=204)	TC (n=138)	CC (n=44)	p
Peso (kg)	61,6±14,4	62,0±15,4	63,9±13,0	n.s.
Talla (m)	1,67±0,09	1,67±0,1	1,71±0,09	n.s.
IMC(kg/m ²)	21,8±4,2	22,0±3,8	21,8±3,6	n.s.
Peso Nacer (kg)	3,4±0,6	3,5±0,5	3,5 ±0,6	n.s.
Niñas	TT (n=237)	TC (n=145)	CC (n=55)	p
Peso (kg)	56,2±11,0	55,9±9,8	57,5±11,4	n.s.
Talla (m)	1,60±0,06	1,61±0,06	1,61±0,06	n.s.
IMC (kg/m ²)	21,8±3,6	21,6±3,3	22,1±4,0	n.s.
Peso Nacer (kg)	3,2±0,5	3,2±0,5	3,3±0,3	n.s.

Tabla 46. Variables antropométricas de los niños y niñas de 6 a 8 años según el genotipo del polimorfismo rs182420

Niños	TT (n=265)	TC (n=196)	CC (n=58)	p
Peso (kg)	26,9±5,3	27,0±5,6	26,8±4,9	n.s.
Talla (m)	1,25±0,06	1,26±0,07	1,26±0,07	n.s.
IMC (kg/m ²)	17,0±2,5	17,0±2,4	16,8±1,9	n.s.
Peso Nacer (kg)	3,4±0,6	3,4±0,5	3,3±0,5	n.s.
Niñas	TT (n=295)	TC (n=205)	CC (n=60)	p
Peso (kg)	26,4±5,4	26,7±5,5	26,7±4,7	n.s.
Talla (m)	1,24±0,07	1,25±0,07	1,27±0,07	n.s.
IMC (kg/m ²)	16,9±2,4	17,1±2,7	16,7±1,9	n.s.
Peso Nacer (kg)	3,2±0,5	3,2±0,5	3,1±0,4	n.s.

10.2.3. Relación del polimorfismo rs182420 con el perfil lipídico y las variables relacionadas con la resistencia a la insulina

Tras un análisis ANOVA observamos que en los niños de 12 a 16 años los niveles de apoB son más elevados en los portadores del alelo mutado C en homocigosis (CC) que en los no portadores de dicho alelo. En las niñas los niveles de apoA1 son significativamente menores en las portadoras del genotipo TT que en las portadoras del genotipo CC (tabla 47).

En el grupo de 6 a 8 años no hemos hallado diferencias significativas en las variables lipídicas entre los tres genotipos del polimorfismo rs182420 (tabla 48).

Tabla 47. Perfil lipídico de los niños y niñas de 12-16 años según el genotipo del polimorfismo rs182420

Niños	TT (n=204)	TC (n=138)	CC (n=44)	p
CT	161,6±29,6	161,0±27,8	165,9±26,0	n.s.
TG	75,1±33,0	84,3±38,3	77,8±36,5	TT-TC*
C-HDL	50,8±15,2	49,9±13,5	48,6±15,0	n.s.
Apo AI	145,7±27,9	141,9±25,1	148,4±26,1	n.s.
C-LDL	95,6±26,4	94,2±23,8	102,5±22,5	n.s.
Apo B	68,1±16,1	68,9±16,0	75,5±15,6	TT-CC*
Niñas	TT (n=237)	TC (n=145)	CC (n=55)	p
CT	169,1±28,1	171,5±30,5	173,5±28,1	n.s.
TG	76,2±28,9	77,9±25,6	75,0±31,7	n.s.
C-HDL	53,7±13,7	55,5±16,4	54,2±13,8	n.s.
Apo AI	146,2±25,3	148,8±25,0	157,5±26,0	TT-CC*
C-LDL	99,8±26,5	100,4±25,8	104,3±27,1	n.s.
Apo B	70,3±16,6	70,8±14,8	74,3±14,8	n.s.

* $p \leq 0,05$

Tabla 48. Perfil lipídico de los niños y niñas de 6-8 años según el genotipo del polimorfismo rs182420

Niños	TT (n=265)	TC (n=196)	CC (n=58)	p
CT	182,5±30,8	182,2±23,0	183,2±27,0	n.s.
TG	71,0±26,4	72,6±26,3	66,5±18,2	n.s.
C-HDL	60,5±12,7	59,7±13,5	61,6±13,7	n.s.
Apo AI	139,1±19,1	136,8±19,1	135,4±17,5	n.s.
C-LDL	107,8±28,9	107,9±23,5	108,3±25,2	n.s.
Apo B	69,3±15,3	68,8±14,3	69,7±13,4	n.s.
Niñas	TT (n=295)	TC (n=205)	CC (n=60)	p
CT	182,5±28,9	185,4±27,8	179,4±27,2	n.s.
TG	74,8±28,1	71,9±23,1	66,6±23,5	n.s.
C-HDL	59,0±13,0	59,6±14,3	57,8±12,8	n.s.
Apo AI	136,0±20,1	136,3±18,0	133,1±16,7	n.s.
C-LDL	108,6±26,1	111,4±26,8	108,3±26,8	n.s.
Apo B	70,8±15,1	71,9±14,4	71,2±16,2	n.s.

En la tabla 49 podemos ver que en los niños de 12 a 16 años de edad los niveles de AGL son menores en el grupo portador del alelo mutado en homocigosis (CC). En las niñas de esta edad los niveles de glucosa, insulina y HOMA son significativamente superiores en las que tienen genotipo CC frente a las TC y CC.

En los niños y niñas de 6 a 8 años no encontramos diferencias significativas entre genotipos en los niveles de glucosa, insulina, HOMA y AGL (tabla 50).

Tabla 49. Variables relacionadas con la resistencia a insulina en niños y niñas de 12 a 16 años según el genotipo del polimorfismo rs182420

Niños	TT (n=204)	TC (n=138)	CC (n=44)	p
Glucosa (mg/dl)	92,7±20,0	93,1±8,5	94,1±7,9	n.s.
Insulina (μU/ml)	8,2±7,0	9,0±6,8	9,8±5,7	n.s.
HOMA	1,9±2,2	2,1±1,9	2,3±1,3	n.s.
AGL (meq/l)	0,4±0,2	0,4±0,2	0,3±0,1	TC-CC*
Niñas	TT (n=237)	TC (n=145)	CC (n=55)	p
Glucosa(mg/dl)	88,7±9,4	89,0±8,0	92,0±9,2	TT-CC*
Insulina (μU/ml)	8,8±5,0	8,1±5,4	11,4±8,4	TC-CC*
HOMA	1,9±1,0	1,8±1,5	2,6±1,9	TC-CC*
AGL (meq/l)	0,4±0,2	0,4±0,2	0,4±0,2	n.s.

*p≤0,05

Tabla 50. Variables relacionadas con la resistencia a insulina en población de 6-8 años según el genotipo del polimorfismo rs182420

Niños	TT (n=265)	TC (n=196)	CC (n=58)	p
Glucosa (mg/dl)	91,2±8,5	92,1±8,4	89,5±7,3	n.s.
Insulina (μU/ml)	3,5±2,5	3,2±2,3	3,7±2,3	n.s.
HOMA	0,8±0,6	0,7±0,6	0,8±0,5	n.s.
AGL (meq/l)	0,7±0,3	0,7±0,2	0,7±0,2	n.s.
Niñas	TT (n=295)	TC (n=205)	CC (n=60)	p
Glucosa (mg/dl)	89,0±14,2	89,3±9,0	90,0±6,8	n.s.
Insulina (μU/ml)	3,8±3,5	3,6±2,2	3,7±2,9	n.s.
HOMA	0,9±0,8	0,8±0,5	0,8±0,6	n.s.
AGL (meq/l)	0,7±0,3	0,7±0,3	0,6±0,2	n.s.

10.2.4. Relación del polimorfismo rs182420 con los niveles de hormonas sexuales

Tanto en niños como en niñas de 12 a 16 años observamos que los niveles de SHBG son significativamente menores en los portadores del alelo mutado en homocigosis (CC) (tabla 51).

En el grupo de 6 a 8 años (tabla 52) observamos que los niveles de SHBG son menores en los que presentan genotipo CC pero solo se alcanza la significación estadística en el grupo de los niños.

Tabla 51. Niveles de hormonas sexuales según el genotipo en niños y niñas de 12-16 años

Niños	TT	TC	CC	p
SHBG (ng/ml)	49,05±28,3	56,3±44,2	38,3±22,7	TT-CC* TC-CC**
Testosterona(ng/ml)	5,0±3,0	4,6±2,7	6,0±2,8	TC-CC*
Estradiol (ng/ml)	38,8±18,8	36,1±15,3	42,7±22,5	n.s.
Niñas	TT	TC	CC	p
SHBG (ng/ml)	62,5±31,1	69,0±41,0	52,7±28,6	TC-CC**
Testosterona(ng/ml)	0,9±0,6	0,9±0,6	1,1±0,8	n.s.
Estradiol (ng/ml)	92,9±82,4	87,1±78,2	100,1±72,0	n.s.

**p≤0,01 *p≤0,05

Tabla 52. Niveles de hormonas sexuales según el genotipo en niños y niñas de 6-8 años

Niños	TT	TC	CC	p
SHBG (ng/ml)	138,9±97,5	115,0±82,3	84,8±37,7	TT-CC*
Testosterona(ng/ml)	0,2±0,1	0,2±0,1	0,2±0,1	n.s.
Estradiol (ng/ml)	27,0±18,4	37,5±31,6	21,9±11,0	n.s.
Niñas	TT	TC	CC	p
SHBG (ng/ml)	100,2±64,1	123,8±90,8	81,6±48,2	n.s.
Testosterona(ng/ml)	0,2±0,1	0,2±0,1	0,2±0,02	n.s.
Estradiol (ng/ml)	27,3±8,2	29,4±18,5	35,8±13,6	n.s.

Discusión



Niveles de DHEA-S en niños adolescentes

Antes del inicio de la pubertad, a edades comprendidas entre los 6 y 8 años, se observan modificaciones en la actividad de la glándula suprarrenal, proceso conocido como adrenarquia, que originan un aumento de la producción de DHEA y DHEA-S, hasta niveles máximos aproximadamente de $63\mu\text{g}/\text{dL}$. Las concentraciones de DHEA-S continúan aumentando de forma progresiva durante la adolescencia hasta alcanzar las concentraciones propias del adulto poco después de finalizada la pubertad, con unos valores medios de $200\mu\text{g}/\text{dL}$ ²¹⁹.

En nuestro estudio de niños adolescentes, entre los 12 y 16 años de edad, los niveles de DHEA-S presentan un valor medio de $154,5\pm 95,8\ \mu\text{g}/\text{dL}$ en niñas y un valor medio de $162,1\pm 105,2\ \mu\text{g}/\text{dL}$ en niños, observándose variaciones importantes en la distribución de esta variable.

Al analizar los niveles de DHEA-S a lo largo del periodo de edad estudiado observamos que tanto en los niños como en las niñas los niveles de DHEA-S a los 12 años son más bajos que en el resto de las edades estudiadas (13-16 años). Sin embargo no existe un aumento gradual con la edad de los niveles de DHEA-S. Apreciamos un incremento significativo respecto a los niveles a los 12 años de edad en ambos sexos, pero después ya no existen diferencias significativas en dichos niveles de DHEA-S a lo largo del intervalo de edad considerado.

En un estudio previo del 1^{er} corte del Estudio Cuatro Provincias²²⁰ que incluía niños en una edad comprendida entre los 6 y los 8 años, es decir en la edad en la que está ocurriendo el proceso de adrenarquia, se observó un aumento progresivo de los niveles de DHEA-S en ambos sexos hasta un valor máximo al final del periodo de edad estudiado; valor máximo que alcanzaban antes las niñas que los niños. Las niñas a los 7,5 años presentan unos niveles medios de

DHEA-S de $44,25 \pm 35,80$ $\mu\text{g/dL}$ (mediana = $32,90$ $\mu\text{g/dL}$) que los niños no alcanzan hasta los 8 años (media de $48,67 \pm 40,30$ $\mu\text{g/dL}$, y mediana = $32,94$ $\mu\text{g/dL}$), edad en la que los niveles de DHEA-S se igualan en ambos sexos. Sizonenko²¹⁹ estableció que la maduración de la zona androgénica de la corteza adrenal tiene lugar a los 7 años en las niñas y a los 8 en niños, periodo durante el cual los niveles de DHEA-S aumentan.

Los datos en los adolescentes de nuestro estudio, no presentan diferencias significativas en las concentraciones de DHEA-S entre los 13 y los 16 años en ningún sexo en nuestra población. A los 16 años muestran valores de DHEA-S próximos a los característicos del adulto. No hemos encontrado en la literatura otros estudios de poblaciones puberales sanas con los que comparar nuestros datos, ya que los estudios encontrados o bien incluyen niños enfermos^{221 222 223} o la muestra poblacional con el mismo rango de edad que la nuestra, es muy pequeña^{224 225 226}.

Dado que la DHEA es una hormona que forma parte de un paso intermedio en el metabolismo de los esteroides sexuales adrenales, cabría esperar diferencias entre sexos en los niveles medios de DHEA-S. Estas diferencias se han constatado en población adulta. Carlström K et al²²⁷ en una población de 120 hombres y mujeres con edades comprendidas entre 20-84 años, demostró que los niveles de DHEA-S son significativamente menores en las mujeres. También los resultados de *The Rancho Bernardo Study*, estudiando sujetos sanos de edades comprendidas entre 50 y 89 años, llevaron a la conclusión de que los niveles de DHEA-S eran más bajos en mujeres que hombres²²⁸. Orentreich et al, sin embargo, en un estudio transversal que incluyó hombre y mujeres entre 15 y 89 años, observaron que los niveles de DHEAS eran más bajos en mujeres que en hombres en edades entre los 20 y los 89, sin diferencias aparentes entre sexos entre los 15 y los 19 años⁶⁶. Se ha sugerido que la existencia de una secreción testicular de DHEA-S en condiciones basales^{62 66} o bien el hecho de una sulfatación

gonadal de la DHEA-S²²⁹ puede sustentar estas diferencias observadas entre sexos.

En nuestra población adolescente, a pesar de que son ligeramente más altos en el grupo de los niños, no existen diferencias significativas entre sexos en los niveles medios de DHEA-S (162,1±105,2 µg/dl en niños y 154,5±95,8 µg/dl en niñas). En el estudio de nuestro grupo en niños prepuberales (6-8 años) se observó que a lo largo de todo el intervalo de edad estudiado, las niñas tenían unos niveles significativamente más elevados de DHEA-S que los niños. Hablábamos por ello, tal y como se ha comentado antes, de diferencias cronológicas entre niños y niñas en el estado de maduración. De nuevo a la hora de comparar nuestros resultados con los resultados de otros estudios en adolescentes, nos encontramos con estudios de un reducido tamaño muestral que no permite la comparación²¹⁹⁻²²¹.

Niveles de DHEA-S y variables antropométricas

La adolescencia y la pubertad son momentos de grandes cambios metabólicos que se van a ver reflejados en importantes variaciones en las variables antropométricas de los niños y niñas. Estos cambios metabólicos están regulados por factores genéticos, hormonales y ambientales y en ellos los esteroides sexuales juegan un papel primordial²³⁰. La relación entre los cambios hormonales subyacentes durante la pubertad y los valores antropométricos y de composición corporal ha sido ampliamente estudiada^{231 232}.

El incremento individual de la masa corporal como tal es un factor que afecta marcadamente al aumento de la secreción de andrógenos adrenales durante la adrenarquia¹¹⁴; del mismo modo la pérdida de peso también provoca variaciones en los niveles de DHEA-S^{118 233}.

En nuestra población al analizar la relación de la DHEA-S con las variables antropométricas, observamos que los niveles de DHEA-S

correlacionan de forma positiva y significativa con el peso, el IMC, la circunferencia del brazo y la circunferencia de la cadera, tanto en niños como en niñas, y con la circunferencia de la cintura sólo en el grupo de las niñas.

En otras poblaciones adolescentes como la estudiada por Arquitt et al²³⁴ que incluye 64 niños de entre 10,6 y 14,3 años de edad, también se observa una correlación positiva de los niveles de DHEA-S y el peso. Baer HJ et al²³⁵, en un estudio longitudinal de 286 niñas, encontró una asociación positiva entre el IMC y los niveles de DHEA-S. La existencia de una correlación positiva significativa entre las concentraciones de DHEA-S y las variables antropométricas ha sido descrita, así mismo, en estudios en poblaciones prepuberales²³⁶, incluido nuestro estudio en niños de 6 a 8 años de edad²¹⁵.

Sin embargo existen estudios como el de Bond et al¹¹⁹ en niñas adolescentes o el de Remer et al¹¹⁴, que sugieren que la edad es un factor confundente en esta asociación entre los niveles de DHEA-S y las variables antropométricas.

En nuestra población, la relación entre los niveles de DHEA-S y el IMC permanece significativa después de ajustar por edad en las niñas.

Los valores de DHEA-S en nuestro estudio son significativamente mayores tanto en niños como en niñas con exceso de peso frente a los que tienen un peso normal ($184,5 \pm 128,1$ vs $151,0 \pm 90,7$ en niños, y $181,6 \pm 112,3$ vs $145,8 \pm 88,4$ en las niñas).

Los resultados de la literatura a este respecto son inconsistentes. La relación parece establecida en niños prepuberales^{115 215 237}. En los niños de 6-8 años de nuestro estudio se observó que los niveles de DHEA-S eran significativamente más altos en los niños y niñas con sobrepeso u obesidad frente a los de peso normal²¹⁵. L'Allemand et al²³⁴ también observó que tanto en niños como en niñas prepuberales con exceso de peso, los niveles de DHEA-S eran superiores que los niveles de DHEA-S en el grupo control con peso normal.

Genazzini et al²³⁸ encontró que las niñas obesas prepuberales tenían niveles mayores de DHEA-S que las niñas con peso normal.

Los estudios en adolescentes son escasos. Hay algunos en poblaciones de niñas adolescentes obesas^{239 240 241} que han observado unos niveles de DHEA-S aumentados; sin embargo existen menos datos sobre los niveles de DHEA-S en niños adolescentes con obesidad. A este respecto Reinehr et al¹¹⁸ encontró niveles de DHEA-S mayores en niños obesos frente a los de peso normal, pero la significación estadística sólo se alcanzaba en los niños prepuberales, y no en los puberales.

Estudios transversales han sugerido que la obesidad, particularmente la obesidad central, podría estar relacionada con un detrimento en la producción de esteroides sexuales en hombres^{154 109}. La misma sugerencia la encontramos en datos procedentes de estudios longitudinales^{242 243}. Se ha sugerido que la obesidad central es un predictor del descenso de la DHEA-S con la edad, mucho más fuerte que el IMC²⁴⁴. Derby CA et al²⁴⁵ en un estudio en 942 hombres de 40-70 años, concluyó que la obesidad central puede predecir el declive de la DHEA-S que se produce con la edad de una forma más potente de lo que hace el IMC. Sin embargo, en un estudio reciente en hombres y en mujeres postmenopáusicas no se encontraron asociaciones entre los niveles plasmáticos de DHEA-S y el índice cintura/cadera en ninguno de los sexos²⁴⁶.

Al ajustar por edad o bien por edad e IMC, los resultados de los estudios siguen siendo inconsistentes, así, existen estudios que no encuentran una asociación significativa entre los niveles de DHEA-S y las medidas de obesidad central^{100 247} mientras que otros estudios en mujeres encuentran una asociación positiva y significativa independiente de la edad^{248 112}.

En nuestra población no tenemos datos sobre la composición corporal debido a que sólo disponemos de ese dato en un número reducido de niños, sin embargo sí que hemos observado que los niveles

de DHEA-S correlacionan de una forma consistente con marcadores de la distribución de la masa corporal (perímetro de la cadera y circunferencia del brazo)

DHEA-S y peso al nacer

Se ha postulado que las concentraciones de DHEA-S en niños pueden estar relacionadas con el crecimiento fetal y que éste puede ser un modulador de la adrenarquia¹³⁴.

Los niveles circulantes de esteroides durante la infancia y adolescencia pueden verse influenciados por el peso en el momento del nacimiento. Wada K et al²⁴⁹ en un estudio en niños y niñas prepuberales, mostraron que los niveles de esteroides en la infancia podrían verse afectados por el peso al nacer.

Existen numerosos estudios en población infantil que han relacionado un bajo peso para la edad gestacional con concentraciones elevadas de DHEA-S^{135 250 251 252}.

En niños prepuberales (6-8 años) del primer corte del estudio 4P se observó que los niveles plasmáticos de DHEA-S correlacionaban de manera inversa y significativa con el peso al nacer. Un análisis de regresión lineal encontró una influencia significativa y negativa del peso al nacer sobre las concentraciones de DHEA-S, tanto en el total de la población como por sexos²⁵³, de modo que el peso al nacer explicaba un 26% de los niveles de DHEA-S en niñas y un 36% de los niveles de DHEA-S en niños.

Sin embargo en nuestra población adolescente no encontramos relación entre los niveles de DHEA-S con el peso de los niños y niñas al nacer.

Un bajo peso al nacer predispone a la aparición en el niño de una adrenarquia prematura^{254 255 256 257}. Estudios recientes han propuesto que en las niñas un mayor peso al nacer puede conducir a una maduración sexual más temprana^{258 259} sin embargo en las niñas

de nuestro estudio no hemos encontrado una relación entre el peso al nacer y la edad de la menarquia.

DHEA-S y Presión Arterial

La mayor parte de los estudios existentes que relacionan los niveles de DHEA-S con la presión arterial están realizados en población adulta y contienen resultados contradictorios^{260 261}. Así, Hautanen A et al en una población de 159 hombres pertenecientes al *The Helsinki Heart Study*²⁶², encontró que la DHEA-S correlacionaba débilmente y de forma positiva con la presión sanguínea, lo mismo que Haffner et al¹⁴³ en un estudio en 253 mujeres postmenopaúsicas, mientras que ni Barret-Connor et al¹¹⁵ en mujeres postmenopaúsicas pertenecientes al estudio *Rancho Bernardo*, ni en el *Honolulu Heart Study*²⁶³, se encontraron asociaciones entre los niveles de DHEA-S y la presión sanguínea.

En un estudio en población joven de 18 a 30 años se ha mostrado una relación inversa de los niveles de DHEA-S con la presión arterial en los hombres pero en el límite de la significación estadística²⁶⁴.

En nuestra población encontramos que la presión arterial sistólica es ligeramente mayor, en ambos sexos, en el tercil más elevado de DHEA-S, pero sin alcanzar la significación estadística. No encontramos correlación entre los niveles de DHEA-S y la presión arterial.

Publicaciones recientes sobre presión arterial en niños y adolescentes evidencian que la prevalencia de hipertensión en estas edades está aumentando^{265 266} y que el incremento en las tasas de hipertensión es atribuible a la presencia de obesidad^{267 268}. Aunque la definición de hipertensión arterial en niños y adolescentes es variable y dependiente de la altura y el sexo, un exceso de masa grasa se asocia con una mayor P.A.Sistólica, independientemente de la edad²⁶⁹.

En los niños de nuestro estudio la P.A.Sistólica es significativamente mayor en los niños que presentan exceso de peso lo cual es consistente con numerosos estudios que han demostrado una fuerte correlación positiva entre el IMC y la P.A.^{270 271 272}. La obesidad puede ser por tanto el factor confundente de la relación entre DHEA-S y P.A.

DHEA-S y perfil lipídico

Durante la maduración sexual, antes de que se establezcan los patrones propios del adulto, ocurren profundos cambios en los niveles plasmáticos de los lípidos^{273 274}. Estudios en niños demuestran que las hormonas sexuales se relacionan con los niveles lipoproteicos^{275 276} y podrían explicar las divergencias sexuales en el perfil lipídico que existe tras la pubertad²⁷⁷.

Se sabe que en la edad prepuberal las concentraciones de CT, TG y C-LDL tienden a ser más altas en las niñas que en los niños, pero cuando llega el momento de la pubertad, en los niños se produce un descenso de C-HDL, mientras que en las niñas se produce un aumento^{278 279}. Se ha atribuido a la testosterona la responsabilidad en los cambios que se producen en los niños^{280 281} y a la producción de estrógenos el aumento de C-HDL que se da en las niñas^{282 283}.

En un estudio previo de nuestro grupo en población adolescente se constató que las hormonas sexuales, en especial la SHBG y la testosterona, están significativamente relacionadas con los cambios en los niveles de lípidos, encontrándose que los niveles de SHBG y testosterona se relacionan con un descenso de los niveles de C-HDL y Apo AI en los niños y con un descenso en los niveles de TG en ambos sexos durante la adolescencia²⁸⁴. Sin embargo ni en ese estudio previo ni en nuestra población hallamos una correlación significativa de la

DHEA-S con ninguna de las variables lipídicas estudiadas ni en el conjunto de la población ni por sexos.

En adultos, estudios transversales han demostrado una correlación positiva entre los niveles de DHEA-S y los niveles de C-HDL en mujeres post-menopáusicas¹⁵² y en hombres²⁸⁵. Otro estudio reciente ha mostrado una correlación inversa entre los niveles de DHEA-S y los niveles de TG en mujeres sanas de 18 a 30 años de edad²⁸⁶ lo cual está en consonancia con un estudio en mujeres postmenopáusicas²⁸⁷ y es contrario a los hallazgos de otro estudio en mujeres con síndrome de ovario poliquístico²⁸⁸.

Los trabajos en la literatura que analizan la relación de la DHEA-S con los niveles de lípidos en niños son escasos. En el estudio de Arquitt et al²³⁴ que incluía 64 niños varones entre 10,6 y 14,3 años concluyó que no existía correlación entre la DHEA-S y las variables bioquímicas CT y C-HDL.

El estudio de Srinivasan et al²⁸⁹, parte del *Bogalusa Heart Study*, que analizaba niños varones adolescentes de 11 a 17 años (251 blancos y 258 negros) concluyó que existía una relación inversa entre los niveles de DHEA-S y el C-HDL sólo en el grupo de niños blancos de 13 a 14 años.

Un resultado interesante de nuestro trabajo es la observación de que los niveles de DHEA-S condicionan las alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad.

En los adolescentes de nuestro estudio encontramos que la DHEA-S modula la relación del IMC con el perfil lipídico ya que observamos que el IMC correlaciona con el C-HDL y la apoA1 en las niñas y con la apoB en ambos sexos, de forma dependiente de los niveles de DHEA-S. De modo que la correlación se observa solamente en los terciles más altos de DHEA-S. Estos datos confirman lo encontrado en población prepuberal de 6-8 años de edad²²⁰ en los que se observaba que en los niños con los niveles plasmáticos de DHEA-S más elevados, el exceso de peso se asociaba con unos menores niveles de C-HDL y apo A1.

DHEA-S y variables asociadas con la resistencia a insulina

Durante la pubertad, los aumentos de hormonas sexuales se han asociado con un estado de aparente resistencia a la insulina¹⁸⁸ de modo que el incremento en las concentraciones basales de insulina durante la pubertad ocurre para compensar esta reducción en la sensibilidad a la insulina^{290 291}. Sin embargo, al igual que ocurre en la población adulta, donde se ha sugerido una relación entre los niveles de DHEA-S y la resistencia a la insulina pero los resultados son inconsistentes^{15 163 171 173}, en adolescentes, la relación de la DHEA-S con la sensibilidad a la insulina permanece sin aclarar.

Estudios que han analizado al mismo tiempo niños y niñas prepuberales y puberales han encontrado correlaciones negativas entre la sensibilidad a la insulina y la DHEA-S sugiriendo que la adrenarquia puede ser un factor responsable del declive de la sensibilidad insulínica durante la infancia. Sin embargo, otros estudios que han analizado sólo niños prepuberales no han encontrado relación alguna entre la DHEA-S y la insulina²⁹² o bien han sugerido que la relación entre los andrógenos adrenales y la insulina se hace presente en los niños y niñas al final del periodo prepuberal^{191 192}.

En un estudio previo de nuestro grupo, analizando niños y niñas prepuberales, aunque la asociación entre la DHEA-S y la insulina y el HOMA fue de alguna manera inconsistente a lo largo del periodo de edad estudiado, sí que se encontró una asociación significativa en los niños, al inicio del periodo de edad estudiado (6,5 años) y en las niñas hacia el final de dicho periodo (8 años)²¹⁵.

Los estudios en población adolescente son escasos. En un estudio reciente en niñas adolescentes obesas no se ha encontrado asociación entre la DHEA-S y la insulina²⁹³, asociación que tampoco encuentra Vogiatzi et al en un estudio con niños adolescentes obesos²⁹⁴.

Otros estudios incluyen un número muy reducido de niños^{245 251} o bien analizan niños con diabetes tipo 1¹⁸⁹.

En nuestra población adolescente, cuando analizamos la asociación de los niveles de DHEA-S con las variables asociadas a la sensibilidad a insulina, no hallamos asociaciones significativas entre la DHEA-S y la insulina y el HOMA. Tampoco Van Hoff et al²³² encontró asociación significativa entre la DHEA-S y la insulina, en niñas sanas adolescentes. A parte de este estudio no hemos encontrado estudios que a nivel poblacional analicen los niveles de DHEA-S en relación con la sensibilidad a la insulina.

Sin embargo, un resultado interesante de nuestro estudio es la asociación entre los niveles de DHEA-S y los niveles de AGL durante el periodo de edad estudiado. Se ha sugerido que una posible conexión entre la DHEA-S y su mecanismo de acción metabólica podría ser un efecto indirecto de la DHEA-S en el perfil de los AGL^{295 296}. Estudios en ratones han mostrado que la DHEA-S modifica las enzimas hepáticas implicadas en la β -oxidación, modulando así el metabolismo de los ácidos grasos^{297 298}. Este efecto se ha visto en mujeres obesas dónde la suplementación con DHEA-S modifica la composición de los ácidos grasos plasmáticos tanto en mujeres premenopáusicas como en postmenopáusicas²⁸⁷ principalmente al provocar la disminución del total de ácidos grasos saturados y aumentar los ácidos grasos poliinsaturados.

Se ha demostrado que antes de inducirse la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina, los AGL aumentan la producción de DHEA y androstenediona en hombres²⁹⁹, lo cual podría explicar que la relación entre la DHEA-S y los AGL se establece incluso cuando la relación con la insulina y la resistencia a la insulina no está aún establecida.

DHEA-S y otras hormonas

En nuestra población de niños adolescentes sanos observamos, que los niveles de DHEA-S correlacionan de forma positiva con los niveles de testosterona y con el estradiol y de forma negativa y significativa con la SHBG. Al separar la población por categorías de obesidad, observamos que la correlación negativa de la DHEA-S con la SHBG se mantiene en ambos sexos pero sólo en aquellos con peso normal.

La correlación de los niveles de la SHBG y la testosterona es mayor en el grupo de las niñas. Esta mayor correlación es consistente con la mayor correlación, aunque de signo opuesto, de la DHEA-S y SHBG en las niñas. Las medidas de testosterona plasmática tienen poca validez a la hora de determinar la función adrenal en los hombres ya que la mayor parte se produce en los testículos. En las mujeres, sin embargo, dos tercios de la testosterona sérica proceden de la corteza adrenal^{300 301 302}, la mayoría de la conversión de DHEA en androstenediona, esto explicaría por qué los niveles de DHEA-S correlacionan fuertemente con los niveles de testosterona en las niñas de nuestra población.

La asociación de la DHEA-S con la leptina y adiponectina sugerida en adultos^{105 303 304} y en algunos estudios en niños^{305 306} no se ha observado en nuestra población.

Tracking de DHEA-S

En epidemiología la palabra *tracking* se utiliza para describir el comportamiento longitudinal de una variable. Este término está claramente asociado a dos conceptos: mantenimiento y predecibilidad³⁰⁷. El grado de mantenimiento a lo largo del tiempo de una variable se valora a través de diferentes metodologías tales como: análisis de correlación, persistencia en cuartiles o persistencia en la misma categoría³⁰⁸; por su parte el concepto de predecibilidad se refiere a la capacidad de predecir valores futuros mediante mediciones previas, para lo cual se utilizan modelos de regresión³⁰⁹.

Existen numerosos estudios dirigidos a analizar el tracking de los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular clásicos. En este sentido múltiples estudios han observado la existencia de tracking del IMC desde la edad pediátrica hasta la edad adulta^{310 311 312 313} para demostrar el porcentaje de niños que estando en un tercil elevado de obesidad se mantienen en ese mismo tercil elevado en la edad adulta.

Un estudio previo en nuestra población de niños y niñas analizando el tracking de IMC desde la edad prepuberal (6-8 años) hasta la adolescencia (12-16) años, ha demostrado un porcentaje importante de *tracking* del IMC más elevado en los niños que en las niñas³¹⁴.

Encontramos también múltiples estudios que describen el mantenimiento de los lípidos desde la infancia a la edad adulta, así por ejemplo Webber et al³¹⁵ en un estudio realizado con 1586 niños entre 2 y 14 años seguidos durante 12 años hasta que tenían 14-26 años, concluyó que los niveles de lípidos y lipoproteínas en la infancia eran buenos predictores de los niveles en jóvenes adultos.

En nuestros niños se observa un importante *tracking* de los niveles de lípidos en particular de la apoB, entre los 6-8 años y los 12-16 años (un 39,1% en los niños y un 21,8% en las niñas), *tracking* que es mayor

que el del C-LDL donde los porcentajes son del 23,3% para los niños y 13,3% para las niñas, constituyéndola así en un útil marcador de hipercolesterolemia en la infancia³¹⁶.

Aun admitiendo que la DHEA-S es una variable que sufre importantes modificaciones con la edad, nos pareció interesante analizar si los niños prepuberales que se encuentran en unos rangos elevados de DHEA-S se mantendrían en esos altos niveles en la adolescencia. Observamos que los niveles de DHEA-S en los niños a los 6-8 años de edad explicarían el 19% de los niveles de DHEA-S en los niños a los 12-16 años; en las niñas este porcentaje es del 22,5%. Observamos, pues, que las correlaciones son altas, similares a las observadas en el caso de los lípidos.

No hemos encontrado en la literatura estudios de *tracking* de los niveles de DHEA-S, con los que comparar nuestros datos.

DHEA-S y polimorfismos en el gen de la sulfotransferasa SULT2A1

Basados en los resultados de publicaciones recientes que, tratando de identificar los genes que regulan la concentración plasmática de DHEA-S, sugerían una relación significativa de variantes en el gen de la sulfotransferasa SULT2A1 con los niveles de DHEA-S en sujetos sanos decidimos analizar la asociación de polimorfismos en dicho gen con las concentraciones plasmáticas de DHEA-S en nuestro estudio.

En nuestra población de 12 a 16 años los alelos menos comunes de los polimorfismos rs2637125 y rs182420 del gen SULT2A1 se asocian de forma significativa con una menor concentración plasmática de DHEA-S.

El alelo menos frecuente del polimorfismo rs2637125 también se ha correlacionado negativamente con las concentraciones de DHEA-S en el metanálisis de Zhai et al²⁰⁶, y el alelo menor del polimorfismo rs182420 se ha asociado con menores niveles de DHEA-S en mujeres con síndrome de ovario poliquístico²⁰⁸. No hemos sido capaces de encontrar estudios que analicen la asociación entre polimorfismos en el gen SULT2A1 y niveles de DHEA-S en poblaciones adolescentes.

Sin embargo, es interesante observar, que estos polimorfismos no afectan a los niveles de DHEA-S en niños los prepuberales, de 6-8 años de edad, de nuestro estudio. En el único estudio en población prepuberal que hemos sido capaces de encontrar en la literatura, los autores tampoco encontraron asociación alguna entre el polimorfismo rs182420 y la concentración plasmática de DHEA-S en 73 niños con adrenarquia prematura y 97 niños sanos control²⁰⁹.

Como hemos comentado repetidamente, los niveles plasmáticos de DHEA-S siguen un patrón asociado a la edad con niveles elevados inmediatamente después del nacimiento que disminuyen marcadamente en los meses siguientes para empezar a aumentar de

nuevo entre los 6 y 10 años de edad alcanzando su pico entre los 15 y 24 años, y a partir de ahí empezar a decaer de forma continua hasta el envejecimiento⁶⁹.

Nuestros datos apuntan a que los polimorfismos del gen SULT2A1 estudiados no afectan a los niveles de DHEA-S en población prepuberal, cuando dichos niveles son bajos, pero están relacionados con los niveles que se alcanzan en la adolescencia estrechamente relacionados ya con los niveles propios de la edad adulta.

Conclusiones



Conclusiones

- 1) A diferencia de lo que ocurre en niños de edad prepuberal, en los niños de 12 a 16 años no encontramos diferencias de niveles de DHEA-S entre sexos.
- 2) Los niveles de DHEA-S son significativamente mayores en los adolescentes con exceso de peso que en aquellos con peso normal. Observamos una correlación positiva y significativa de la DHEA-S con el peso, el IMC y las circunferencias del brazo y de la cadera. No encontramos asociación entre los niveles de DHEA-S y el peso al nacer.
- 3) No observamos correlaciones de los niveles de DHEA-S con el perfil lipídico ni con la presión arterial. A pesar de no hallar correlación con la insulina y el índice HOMA, sí observamos una correlación significativa con los AGL.
- 4) La correlación del IMC con el C-HDL y la apoA1 en niñas y con la apoB en ambos sexos se da únicamente cuando los niveles de DHEA-S son elevados. Su correlación con la insulina y el HOMA es independiente de los niveles de DHEA-S
- 5) Los niveles de DHEA-S a los 6-8 años contribuyen a explicar el 19%% de los niveles de DHEA-S a los 12-16 años en niños y el 22,5% en las niñas.
- 6) Los alelos menos frecuentes para los polimorfismos rs2637125 y rs182420 del gen de la sulfotransferasa SULT2A1, se asocian con niveles más bajos de DHEA-S en niños y niñas de 12 a 16 años,

dónde los niveles de DHEA-S están próximos a los propios de la edad adulta.

- 7) Estos polimorfismos en el gen SULT2A1 no están relacionados con las concentraciones de DHEA-S en niños de 6 a 8 años.

Bibliografía



-
- 1 Baulieu EE, Thomas G, Legrain S et al. *Dehydroepiandrosterone (DHEA), DHEA sulphate, and aging: contribution of the DHEAge study to a sociobiomedical issue.* Proc Natl Acad Sci USA **2000**; 97: 4279-4284
 - 2 Lopez SA. *Metabolic and endocrine factors in aging.* In: Rothschild H (ed) Risk factors for Senility, Oxford University Press, New York, pp.205-219
 - 3 Kalimi M, Regelson W (eds) *Dehydroepiandrosterone (DHEA): Biochemical, physiological and clinical aspects.* Walter de Gruyter, New York. **1999**
 - 4 Weksler MC. *Hormone replacement for men.* British Medical Journal **1996**; 312: 859-860
 - 5 Baulieu EE. *Dehydroepiandrosterone (DHEA): a fountain of youth?* J Clin Endocrinol Metab **1996**; 81:3147-3151
 - 6 Forsblad-d'Elia H, Carlsten H, Labrie F et al. *Low serum levels of sex steroids are associated with disease characteristics in primary Sjogren's syndrome; supplementation with dehydroepiandrosterone restores the concentrations.* J Clin Endocrin Metab **2009**; 94: 2004
 - 7 Suzuki T, Suzuki N, Engleman EG et al. *Low serum levels of dehydroepiandrosterone may cause deficient IL-2 production by lymphocytes in patients with systemic lupus erythematosus(SLE)* Clin Exp Immunol **1995** ; 99: 251
 - 8 Sawalha AH and Kovats S. *Dehydroepiandrosterone in systemic lupus erythematosus.* Curr Rheumatol Rep **2008**; 10: 286-291
 - 9 Charlton M, Angulo P, Chalasani N et al. *Low circulating levels of dehydroepiandrosterone in histologically advanced nonalcoholic fatty liver disease.* Hepatology **2008**; 47: 484-492
 - 10 Haning RV. *Using DHEA-S to monitor androgen disorders.* Contemp Obstet Gynecol **1981**; 18: 117-13
 - 11 Pitts RL. *Serum elevation of DHEA-S associated with male pattern baldness in young men.* J Am Acad Dermatol **1987**; 16: 571-573

-
- 12 Finckh A, Berner IC, Aubry-Rozier B et al. *A Randomized controlled trial of dehydroepiandrosterone in postmenopausal women with fibromyalgia.* J Rheumatol **2005**; 32(7):1336-40.
- 13 Ratko TA, Detrisac CJ, Mehta RG et al. *Inhibition of rat mammary gland chemical carcinogenesis by dietary dehydroepiandrosterone or a fluorinated analogue dehydroepiandrosterone.* Cancer Res **1991**; 51: 481-486
- 14 Schwartz AG, Pashko L, Whitcomb JM. *Inhibition of tumor development by dehydroepiandrosterone and related steroids.* Toxic Path **1986**; 14:357-362
- 15 Kawano H, Yasue H, Kitagawa A, et al. *Dehydroepiandrosterone supplementation improves endothelial function and insulin sensitivity in men.* J Clin Endocrinol Metab **2003**; 88(7):3190-5.
- 16 Wolkowitz OM, Reus VI, Roberts E et al. *Dehydroepiandrosterone (DHEA) treatment of depression.* Biol Psychiatry **1997**; 41. 311-318
- 17 Wolkowitz OM, Reus VI, Keebler A et al. *Double-blind treatment of major depression with dehydroepiandrosterone.* Amer J Psych **1999**; 156: 646-649
- 18 Wong SY, Leung JC, Kwok T et al. *Low DHEA-S levels are associated with depressive symptoms in elderly Chinese men: results from a large study.* Asian J Androl **2011**; 13: 898-902
- 19 Bloch M, Schmidt PJ, Danaceau MA et al. *Dehydroepiandrosterone treatment of mildlife dysthymia.* Biol Psych **1999**; 45: 1533-1541
- 20 Arlt W, Callies F, van Vijmen JC et al. *Dehydroepiandrosterone replacement in women with adrenal insufficiency.* New Eng J Med. **1999**; 341:1013-1020
- 21 Hunt OJ, Gurnell EM, Huppert FA et al. *Improvement in mood and fatigue after dehydroepiandrosterone replacement in Addison's disease in a randomized double blind trial.* J Clin Endocrinol Metab **2000**; 85: 4650-4656

-
- 22 Young J, Couzinet B, Nahoul K et al. *Panhypopituitarism as a model to study the metabolism of dehydroepiandrosterone (DHEA) in humans.* J Clin Endocrinol Metab **1997**; 82: 2578-2585
- 23 Davis SR, Shah SM, McKenzie DP et al. *Dehydroepiandrosterone sulfate are associated with more favorable cognitive function in women.* J Clin Endocrinol Metab **2008**; 93:801-808
- 24 Huppert FA, Van Niekerk JK. *Withdrawn: Dehydroepiandrosterone supplementation for cognitive function.* Cochrane Database Syst Rev. **2007** 2: CD000304
- 25 Baulieu EE, Robel P. *Dehydroepiandrosterone and DHEA-S as neuroactive neurosteroids.* J Endocrinol **1996**; 150: S221-S239
- 26 Friess E, Trachsel L, Guldner J et al. *DHEA administration increases rapid eye movement sleep and EEG power in the sigma frequency range.* Am J Physiol **1995**; 268: E107-E113
- 27 Morales AJ, Nolan JJ, Nelson JC et al. *Effects of replacement dose of dehydroepiandrosterone in men and women of advancing age.* J Clin Endocrinol Metab **1994**; 78: 1360-1367
- 28 Cappola AR, Xue QL, Walston JD et al. *DHEA-S levels and mortality in disabled older women: the Women's Health and Aging Study.* J Gerontol A Biol Sci Med. Sci **2006**; 61: 957-962
- 29 Enomoto M, Adachi H, Fukami A et al. *Serum dehydroepiandrosterone sulphate levels predict longevity in men: 27-year follow-up study in a community based cohort (Tanushimaru study).* J Am Geriatr Soc **2008**; 56: 994-998
- 30 Barrou Z, Charru P, Lidy C. *Actions of dehydroepiandrosterone: possible links with aging.* Press Med **1996**; 25: 1885
- 31 Coleman DL, Leiter EH, Schwizer RW. *Therapeutic effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) in diabetic mice.* Diabetes **1982**; 31: 830-833
- 32 Yen TT, Allan JA, Pearson DV et al. *Prevention of obesity in Avy/a mice by dehydroepiandrosterone.* Lipids **1977**; 12: 409-413

-
- 33 Maceren EG and Kurzman ID. *Obesity in the dog: role of the adrenal steroid dehydroepiandrosterone (DHEA)*. J Nutr **1991**; 121: S51-S55
- 34 Schwartz AG. *Inhibition of spontaneous breast cancer formation in female C3H (Avy/a) mice by long-term treatment with dehydroepiandrosterone*. Cancer Res **1979**. 39: 1129-1132
- 35 Bocuzzi G, Aragno M, Brignardello E et al. *Opposite effects of dehydroepiandrosterone on the growth of 7,12 dimethylbenzanthracen-induced rat mammary carcinomas*. Anticancer Res. **1992**; 12: 1479-1483
- 36 Bélanger A, Candas B, Dupont A et al. *Changes in serum concentrations of conjugated and unconjugated steroids in 40 to 80 year-old men*. J Clin Endocrin Metab. **1994**; 79: 1086-1090
- 37 Schriock ED, Buffington CK, Hubert GD et al. *Divergent correlation of circulating dehydroepiandrosterone sulfate and testosterone with insulin levels and insulin receptor binding*. Clin Endocrin Metab **1988**; 66: 1329-1331
- 38 Bednarek-Tupikowska G, Tworoska-Bardninzska U, Tupikowski K et al. *The correlations between endogenous DHEA-S and some atherosclerosis risk factors in premenopausal women*. Med Sci Monit **2008**; 14: CR37-41js
- 39 Blanchette S, Marceau P, Biron S. *Circulating progesterone and obesity in men*. Horm Metab Res **2006**; 38: 330-335
- 40 Thijs L, Fagard R, Forette F et al. *Are low dehydroepiandrosterone sulphate levels predictive for cardiovascular diseases? A review of prospective and retrospective studies*. Acta Cardiol **2003**; 58: 403-410
- 41 Wu FC and Von Eckardstein A. *Androgens and coronary artery disease*. Endocrin Rev **2003**; 24:183-217
- 42 Muller M, van der Shouw YT, Thijssen JHH et al. *Endogenous sex hormones and cardiovascular disease in men*. J Clin Endocrin Metab **2003**; 88: 5706-5086

-
- 43 Barret-Connor E, Khaw KT, Yen SS. *A prospective study of DHEA-S, mortality, and cardiovascular disease.* N Engl J Med **1986**; 315: 1519-1524
- 44 Barret-Connor E and Goodman-Gruer D. *The epidemiology of DHEA-S and cardiovascular disease.* Ann. NY Acad Sci **1995**; 774: 259-270
- 45 Creatsa M, Armeni E, Stamatelopoulos K et al. *Circulating androgen levels are associated with subclinical atherosclerosis and arterial stiffness in healthy recently menopausal women.* Metabolism **2012** ;61:193-201
- 46 Ii M, Hoshiga M, Negoro N et al. *Adrenal androgen dehydroepiandrosterone sulfate inhibits vascular remodeling following arterial injury.* Atherosclerosis **2009** ; 206: 77-85
- 47 Eich DM, Nestler JE, Johnson DE et al. *Inhibition of accelerated coronary atherosclerosis with dehydroepiandrosterone in the heterotopic rabbit model of cardiac transplantation.* Circulation **1993**; 87: 261-269
- 48 Gordon GB, Bush DE and Wisman HF. *Reduction of atherosclerosis by administration of dehydroepiandrosterone.* J Clin Invest **1988**; 82: 712-720
- 49 Yamakawa T, Ogihara K, Nakamura M et al. *Effect of DHEA on atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice.* J of Atherosclerosis and thrombosis **2009**. Vol 16 N.4
- 50 Hornsby PJ. *Biosynthesis of DHEA-S by the human adrenal cortex and its age related decline.* Ann.N Y Acad. Sci. **1995**; 774: 29-46
- 51 Regelson W and Kalimi M. *Dehydroepiandrosterone (DHEA)- the multifunctional steroid. II. Effects on the CNS, cell proliferation, metabolic and vascular, clinical and other effects.* Mechanism of action? Ann NY Acad Sci **1994**; 719: 564-575
- 52 Nelson D. *Adrenal androgens.* The adrenal cortex. In Smith I Jr (ed): *Physiological function and disease.* Vol 18. WB Saunders Company, Philadelphia; **1980**; p 102

-
- 53 Bird CE, Masters V, Clark AF. *Dehydroepiandrosterone sulfate: kinetics of metabolism in normal young men and women*. Clin Invest Med **1984**; 7:119-12
- 54 Vande Wiele RL, Macdonald PC, Gurpide E. *Studies on the secretion and interconversion of the androgens*. Recent Prog Horm Res **1963**;19:275
- 55 Abraham G. *Ovarian and adrenal contribution to peripheral androgens during the menstrual cycle*. J Clin Endocrinol Metab **1974**; 39: 340
- 56 Maroulis G, Manlimos F, Abraham G. *Comparison between urinary 17-ketosteroids and serum androgens in hirsute patients*. Obstet Gynecol **1977**; 49:454
- 57 Zumoff B, Rosenfield RS, Strain GW et al. *Sex differences in the twenty-four-hour mean plasma concentrations of dehydroisoandrosterone (DHA) and dehydroisoandrosterone sulfate (DHAS) and the DHA to DHAS ratio in normal adults*. J Clin Endocrinol Metabol **1980**; 51: 330-333
- 58 Hornsby PJ. *Biosynthesis of DHEAS by the human adrenal cortex and its age-related decline*. Ann N Y Acad Sci **1995** ;774:29-46
- 59 Forest M, de Peretti E, Bertrand J. *Developmental patterns of the plasma levels of testosterone, androstenodione, 17-alpha-hydroxyprogesterone, dehydroepiandrosterone and its sulfate in normal infants and prepubertal children*. In James V, Seria M, Giusti G, Martini L (eds): The endocrine function of the Human Adrenal Cortex. Academic Press, London, **1978**, p.561
- 60 Dhom G. *The prepubera and puberal growth of the adrenal (Adrenarche)* Beitr Pathol BD **1973**:150:357-377
- 61 Parker CR Jr, Staton B, Grilliot M. *Ontogeny of cytochrome B5 and cytochrome P450 C17 in the human fetal adrenal gland during normal development*. Endocr Res. **2004**;30:541-2
- 62 Apter D, Pakarinen A, Hammond GL et al. *Adrenocortical function in puberty*. Acta Paediatr Scand **1979**; 68: 599-604

-
- 63 DePeretti E, Forest MG. *Pattern of plasma DHEA-S levels in human from birth to adulthood: Evidence for testicular production.* J Clin Endocrinol Metab **1978**; 47: 572
- 64 Genazzani AR, Facchinetti F, Pintor C et al. *Proopiomelanocortin-related peptide plasma levels throughout prepuberty and puberty.* J Clin Endocrinol Metab **1983**; 57:56-61
- 65 Parker Jr CR. *Dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate production in the human adrenal during development and aging.* Steroids **1999**; 64: 640-647
- 66 Orentreich N, Brind JL, Vogelmen JH et al. *Long-term longitudinal measurements of plasma dehydroepiandrosterone sulfate in normal men.* J Clin Endocrinol Metab **1992**; 75:1002-1004
- 67 Labrie F. *DHEA, important source of sex steroids in men and even more in women.* Prog Brain Res **2010**; 182:97-148
- 68 Vermuelen A. *Adrenal androgens and aging.* In Genazzani A et al (eds): Adrenal androgens. Raven Press, New York **1980**, p207
- 69 Thomas G, Frenoy N, Legrain S et al. *Serum dehydroepiandrosterone sulfate levels as an individual marker.* J Clin Endocrinol Metab **1994**; 79: 1273
- 70 Nestler JE, Whitfield JB, Williams Ty et al. *Genetics of serum dehydroepiandrosterone sulfate and its relationship to insulin in a population-based cohort of twin subjects.* J Clin Endocrinol Metab **2002**; 87: 682
- 71 Dorgan JF, Fears TR, McMahon RP et al. *Measurement of steroid sex hormones in serum: a comparison of radioimmunoassay and mass spectrometry.* Steroids **2002**; 67: 151
- 72 Orentreich N, Brind JL, Rizer RL et al. *Age changes and sex differences in serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations throughout adulthood.* J Clin Endocrinol Metab **1984**; 59: 551-555
- 73 Arlt W. *Dehydroepiandrosterone and ageing.* Best Pract Res Cl En **2004**; 18:363-380

-
- 74 Crawford S, Santero N, Laughlin GA et al. *Circulating DHEA-S concentrations during the menopausal transition*. J Clin Endocrinol Metab **2009**; 94:2945-2951
- 75 Mazat L, Lafont S, Berr C et al. *Prospective measurements of dehydroepiandrosterone sulphate in a cohort of elderly subjects: relationships to gender, subjective health, smoking habits and 10-year mortality*. Proc Natl Acad Sci. USA **2001**; 98: 8145-8150
- 76 Trivedi DP, Khaw KT. *DHEA-S and mortality in elderly men and women*. J Clin Endocrinol Metab **2001**; 86: 4171-4177
- 77 Berr C, Lafont S, Debuire B et al. *Relationships of dehydroepiandrosterone sulfate in the elderly with functional, psychological and mental status, and short-term mortality: a French community-based-study*. Proc Natl Acad Sci USA **1996**; 93: 13410-13415
- 78 Downs JL, Mattison J, Ingram DK et al. *Effect on age and caloric restriction on circadian adrenal steroid rhythms in rhesus macaques*. Neurobiol Aging. **2008**; 29: 1412-1422
- 79 Labrie F, Luu-The V, Belanger A et al. *Is dehydroepiandrosterone a hormone?* J Endocrinol **2005**; 187: 169-196
- 80 Labrie F, Belanger A, Simard J et al. *DHEA and peripheral androgen and estrogen formation: intracrinology*. Am N.Y. Acad Sci **1995**; 774:16-28
- 81 Arlt W, Justl HG, Callies F et al. *Oral dehydroepiandrosterone for adrenal androgen replacement: pharmacokinetics and peripheral conversion to androgens and estrogens in young healthy females after dexamethasone suppression*. J Clin Endocrinol Metab **1998**; 83:1928-1934
- 82 Arlt W, Haas J, Callies F et al. *Biotransformation of oral DHEA in elderly men: significant increase in circulating estrogens*. J Clin Endocrinol Metab; **1999**; 84: 2170-2176
- 83 Parker CR Jr, Slayden SM, Azziz R et al. *Effects of aging on adrenal function in the human: responsiveness and sensitivity of adrenal*

-
- androgens and cortisol to adrenocorticotropin in premenopausal and postmenopausal women.* J Clin Endocrinol Metab **2000**; 85: 48-54
- 84** Flecchia D, Mazza E, Carlini M et al. *Reduced serum levels of dehydroepiandrosterone sulphate in adrenal incidentalomas: a marker of adrenocortical tumour.* Clin Endocrinol **1995**; 42:129
- 85** Kalimi M, Regelson M. *The biological role of dehydroepiandrosterone (DHEA).* Walter de Gruyter; New York: **1990**. p. 1-44
- 86** Widstrom RL, Dillon JS. *Is there a receptor for DHEA or DHEA-S?* Semin Reprod Med **2004**; 22: 289-298
- 87** Huang C, Zhou T, Chen Y et al. *Estrogen-related receptor ERRA-mediated downregulation of human hydroxysteroid sulfotransferase (SULT2A1) in Hep G2 cells.* Chem Biol Interact **2011**; 192:264-271
- 88** Levin ER. *Integration of the extranuclear and nuclear actions of estrogen.* Mol Endocrinol **2005**; 19: 1951-59
- 89** Evinger AJ III, Levin ER. *Requirements for estrogen receptor alpha membrane localization and function.* Steroids **2005**; 70: 361-363
- 90** Sousa A, Ticku MK. *Interactions of the neurosteroid DHEA-S with the GABA (A) receptor complex reveals that it may act via picrotoxin site.* J Pharmacol Exp Ther **1997**; 282: 827
- 91** Johansson T, Le Grevés P. *The effect of dehydroepiandrosterone sulfate and allopregnanolone sulfate on the binding of 3H-ifenprodil to the N-methyl-D-aspartate receptor in rat frontal cortex membrane.* J Steroid Biochem Mol Biol **2005**; 94:263
- 92** Forman BM, Tzamelli I, Choi HS et al. *Androstane metabolites bind to and deactivate the nuclear receptor CAR-beta.* Nature **1998**; 395: 612
- 93** De Heredia FP, Cerezo D, Zamora S et al. *Effect of DHEA on protein and fat digestibility, body protein and muscular composition in high-fat-diet-fed old rats.* Br J Nutr **2007**; 97: 464-470
- 94** Tagawa N, Minamitani E, Yamaguchi Y et al. *Alternative mechanism for anti-obesity effect of dehydroepiandrosterone: possible contribution of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibition in rodent adipose tissue.* Steroids. **2011**; 76:1546-53

-
- 95 Lea-Currie YR, Wen P, McIntosh MK. *Dehydroepiandrosterone sulphate (DHEA-S) reduces adipocyte hyperplasia associated with feeding rats a high-fat diet.* Int J Obes Relat Metab Disord **1997**; 21: 1058-1064
- 96 Cleary MP. *The antiobesity effect of dehydroepiandrosterone in rats.* Proc Soc Exp Biol Med **1991**; 196: 8-16
- 97 Charlton M, Angulo P, Chalasani N et al. *Low circulating levels of dehydroepiandrosterone in histologically advanced nonalcoholic fatty liver disease.* Hepatology. **2008** Feb; 47: 484-92.
- 98 Taniguchi S, Yanase T, Haji M et al. *The antiobesity effect of dehydroepiandrosterone in castrated or noncastrated obese Zucker male rats.* Obes Res **1995**; Suppl 5: 639S-643S
- 99 Mauriège P, Langin D, Montminy V et al. *Effect of a long-term percutaneous adrenal steroid treatment on rat adipose tissue metabolism.* Int J Obes Relat Metab Disord **2000** Jun; 24 Suppl 2:S148-50
- 100 Mauriège P, Martel C, Langin D et al. *Chronic effects of dehydroepiandrosterone on rat adipose tissue metabolism.* Metabolism. **2003**; 52:264-72
- 101 Maccario M, Mazza E, Ramunni J et al. *Relationships between dehydroepiandrosterone sulphate and anthropometric, metabolic and hormonal variables in a large cohort of obese women.* Clin Endocrinol (Oxf) **1999**; 50: 595-600
- 102 Kurtz BR, Givens JR, Komindr S et al. *Maintenance of normal circulating levels of D4-androsterone and dehydroepiandrosterone in simple obesity despite increased metabolic clearance rates: evidence for a servo-control mechanism.* J Clin Endocrinol Metab **1987**; 64: 1261-1266
- 103 De Pergola G, Giagulli VA, Garruti G et al. *Low DHEA circulating levels in premenopausal obese women with very high body mass index.* Metabolism **1991**; 40: 187-190

-
- 104** Couillard C, Gagnon J, Bergeron J et al. *Contribution of body fatness and AT distribution to the age variation in plasma steroid hormone concentrations in men: the HERITAGE family study.* Journal of Clin Endocrin Metab **2000**; 85: 1026-1031
- 105** Gómez-Santos C, Hernández-Morante JJ, Tébar FJ et al. *Differential effect of oral dehydroepiandrosterone sulphate on metabolic syndrome features in pre- and postmenopausal obese women.* Clin Endocrin **2011** doi:10.1111/j.1365-2265.2011.04306.x
- 106** Jakubowicz DJ, Beer NA, Beer RM et al. *Disparate effects of weight reduction by diet on serum dehydroepiandrosterone-sulfate levels in obese men and women.* J Clin Endocrinol Metab **1995** ; 80 : 3373-3376
- 107** Hernández-Morante JJ, de Heredia FP, Luján JA et al. *Role of DHEA-S on body fat distribution: gender and depot specific stimulation of adipose tissue lipolysis.* Steroids. **2008** ;73: 209-15
- 108** Garaulet M, Pérez-Llamas F. Fuente T et al. *Anthropometric, computed tomography and fat-cell data in an obese population: relationship with insulin, leptin, tumor necrosis factor-alpha, sex hormona-binding globulin and sex hormones.* European Journal of Endocrinology **2000**; 143: 657-666
- 109** Haffner SM, Valdez RA, Stern MP et al. *Obesity, body fat distribution and sex hormones in men.* Int J Obes Relat Metab Disord. **1993**; 17: 643-649
- 110** Haffner SM, Valdez RA, Mykkanen L et al. *Decreased testosterone and dehydroepiandrosterone sulfate concentrations are associated with increased insulin and glucose concentrations in nondiabetic men.* Metabolism **1994**; 43: 599-603
- 111** Tchernof A, Despres JP, Belanger A et al. *Reduced testosterone and adrenal C19 steroid levels in obese men.* Metabolism **1995**; 44: 513-519
- 112** Pasquali R, Casimirri F, Cantobelli S et al. *Effect of obesity and body fat distribution on sex hormones and insulin in men.* Metabolism **1991**; 40:101-104

-
- 113 De Pergola G, Zamboni M, Sciaraffia M et al. *Body fat accumulation is possibly responsible for lower dehydroepiandrosterone circulating levels in premenopausal obese women.* Int J Obes Relat Metab Disor **1996**; 20: 1105-1110
- 114 Al-Harithy RN. *Dehydroepiandrosterone sulphate levels in women: relationship with body mass index, insulin and glucose levels.* Saudi Med J **2003**; 24: 837-841
- 115 Barret-Connor E, Ferrara A. *DHEA and DHEA-S, obesity, waist-hip ratio and non insulin-dependent diabetes in postmenopausal women.* The Rancho Bernardo Study. J Clin Endocrinol Metab **1996**; 81: 59-64
- 116 Labrie F, Belanger A, Luu-The V, et al. *DHEA and the intracrine formation of androgens and estrogens in peripheral target tissues: its role during aging.* Steroids **1998**; 63: 322-328
- 117 Remer T and Manz F. *Role of nutritional status in the regulation of adrenarche.* J Clin Endocrinol Metab **1999**; 19: 851-857
- 118 Pintor C, Loeche S, Faedda A et al. *Adrenal androgens in obese boys before and after weight loss.* Hormones and Metabolic Research **1984**; 16: 544-548
- 119 Ahmed ML, Ong KK, Dunger DB. *Childhood obesity and the timing of puberty.* Trends Endocrinol Metab **2009**; 20: 237-242
- 120 Baer HJ, Colditz GA, Willett DC et al. *Adiposity and sex hormones in girls.* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **2005**; 16: 1880-1888
- 121 Reinehr T, de Sousa G, Roth CL et al. *Androgens before and after weight loss in obese children.* J Clin Endocrinol Metab **2005**; 90: 5588-5595
- 122 Bond LJ, Vella ET, Kiparissis Y et al. *Anthropometry and body composition do not predict bioavailable androgen or progesterone concentration in adolescent girls.* Am J Hum Biol **2006**; 18: 639-653
- 123 Ruder EH. *Birth characteristics and age at menarche: results from the Dietary intervention study in children (DISC).* Cancer Causes Control **2010**; 21: 1379-1386

-
- 124 Ibáñez L, Ferrer A, Marcos MV et al. *Early puberty: rapid progression and reduced final height in girls with low birth weight.* Pediatrics **2000**; 106: E72
- 125 Morris DH, Jones ME, Schoemaker MJ et al. *Determinants of age at menarche in the UK: analyses from the breakthrough generations study.* Br J Cancer **2010**; 103: 117-121.
- 126 Romundstad OR, Vatten LJ, Nilsen TI et al. *Birth size in relation to age at menarche and adolescent body size: implications for breast cancer risk.* Int J Cancer **2003**; 105: 400-403
- 127 Phillips DI, Barrer DJ, Hales CN et al. *Thinness at birth and insulin resistance in adult life.* Diabetología **1994**; 37: 150
- 128 Bhargava SK, Sachdev HS, Fall CH et al. *Relation of serial changes in childhood body mass index to impaired glucose tolerance in young adulthood.* N Engl J Med **2004**; 350: 865
- 129 Forsén T, Eriksson J, Tuomilehto J et al. *The fetal and childhood growth of persons who develop type 2 diabetes.* Ann Intern Med **2000**; 133:176
- 130 Barker DJP, Ball AR, Osmond C et al. *Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life.* BMJ **1990**; 301:259-262
- 131 Clark PM, Hindmarsch PC, Shiell AW et al. *Size at birth and adrenocortical function in childhood.* Clin Endocrinol **1996**; 45:721-726
- 132 Eriksson JG, Forsen T, Tuomilehto J et al. *Catch-up growth in childhood and death from coronary heart disease: longitudinal study.* BMJ **1999**; 318: 427-431
- 133 Eriksson JG, Forsen TJ, Osmond C et al. *Pathways of infant and childhood growth that lead to type 2 diabetes.* Diabetes Care **2003**; 26:3006
- 134 Hales CN, Barker DJ. *The thrifty phenotype hypothesis.* Br Med Bull **2001**; 60: 5-20
- 135 Dyck RF, Klomp H, Tan L. *From "thrifty genotype" to "hefty fetal phenotype": the relationship between high birthweight and diabetes in Saskatchewan Registered Indians.* Can J Public Health **2001**; 92: 340

-
- 136 Whincup PH, Kaye SJ, Owen CG et al. *Birth weight and risk of type 2 diabetes: a systematic review*. JAMA **2008**; 300: 2886
- 137 François I, De Zegher F. *Adrenarche and fetal growth*. Pediatr Res **1997**; 41: 440-442
- 138 Dahlgreen J, Boguszewski M, Rosberg S et al. *Adrenal steroids hormones in short children born small for gestational age*. Clin Endocrinol **1998**; 49: 353-361
- 139 Ibáñez L, Potau N, Marcos MV et al. *Exaggerated adrenarche and hyperinsulinis in adolescent girls born small for gestational age*. J Clin Endocrinol Metab **1999**; 84: 4739-4741
- 140 Boonstra VH, Mulder P, De Jong FH et al. *Serum DHEA-S levels and pubarche in short children born small for gestational age before and during growth hormone treatment*. J Clin Endocrinol Metab **2004**; 89: 712-717
- 141 Ferrara A, Barret-Connor E, Shan J. *Total, LDL, and HDL cholesterol decrease with age in older men and women. The Rancho Bernardo Study 1984-1994*. Circulation **1997**; 96:37
- 142 Kreisberg RA, Kasim S. *Cholesterol metabolism and aging*. Am J Med **1987**; 82: 54
- 143 Gallo M, Aragno M, Gatto V et al. *Protective effect of DHEA against lipid peroxidation in a human liver cell line*. Eur J Endocrinol **1999**; 141: 35-39
- 144 Rom WN & Harbin T. *DHEA inhibits the spontaneous release of superoxide radical by alveolar macrophages in vitro in asbestosis*. Environmental Research **1991**; 55: 145-156
- 145 Haffner SM, Laakso M, Miettinen H et al. *Low levels of sex hormone-binding globulin and testosterone are associated with smaller, denser low density lipoprotein in normoglycemic men*. J Clin Endocrinol Metab **1996**; 81: 3697-37014
- 146 Haffner SM, Newcomb Pa, Marcus PM et al. *Relation of sex hormones and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) to*

-
- cardiovascular risk factors in postmenopausal women. Am J Epidemiol* **1995**; 142: 925-934
- 147** Tchernof A, Labrie F, Bélanger A et al. *Relationships between endogenous steroid hormone, sex-hormone-binding globulin and lipoprotein levels in men: contribution of visceral obesity, insulin levels and other metabolic variables. Atherosclerosis* **1997**; 133: 235-24
- 148** Barret-Connor E. *Lower endogenous androgen levels and dyslipidemia in men with non-insulin-dependent diabetes mellitus. Ann Int Med* **1992**; 117: 807-811
- 149** Haffner SM, Mykkänen L, Valdez RA et al. *Relationship of sex hormones to lipids and lipoproteins in non diabetic men. J Clin Endocrinol Metab* **1993**; 77: 1610-1615
- 150** Nafziger AN, Jenkins PI, Bowlin SJ et al. *Dehydroepiandrosterone, lipids and apolipoproteins: associations in a free living population. Circulation* **1990**; 82: 469
- 151** Ravaglia G, Forti P, Maioli F et al. *The relationship of DHEA-S to endocrine-metabolic parameters and functional status in the oldest-old. Results from an Italian study on healthy free-living over-ninety-years-old. J Clin Endocrinol Metab* **1996**; 81: 1173-1178
- 152** Sonka J, Fassatti M, Fassatti P et al. *Serum lipids and DHEA secretion in normal subjects. J Lip Res* **1968**; 9: 769-772
- 153** López SA, Wingo C, Herbert JA et al. *Total serum cholesterol and urinary dehydroepiandrosterone in humans. Arteriosclerosis* **1970**; 24: 471-481
- 154** Nagata C, Takatsuka N, Kabuto M et al. *Association of dehydroepiandrosterone sulphate with serum HDL concentrations in post-menopausal Japanese women. Maturitas* **1998**; 31:21-27
- 155** Noyan V, Yucel A, Sagsoz N. *The association of androgenic sex steroids with serum lipid levels in postmenopausal women. Acta Obstet Gynecol Scand* **2004**; 83:487-490

-
- 156 Tchernof A and Deprés JP. *Sex steroid hormones, sex hormone-binding globulin and obesity in men and women*. *Horm Metab Res* **2000**; 32: 526-536
- 157 Mayes JS and Watson GH. *Direct effects of sex steroid hormones on adipose tissues and obesity*. *Obes Rev* **2004**; 5: 197-216
- 158 Simon D, Charles MA, Nahoul K et al. *Association between plasma total testosterone and cardiovascular risk factors in healthy adult men: the Telecom Study*. *J Clin Endocrinol Metab* **1997**; 82: 682-685
- 159 Gyllemborg J, Rasmussen SL, Borch-Johnsen K et al. *Cardiovascular risk factors in men. The role of gonadal steroids and sex hormone-binding globulin*. *Metabolism* **2001**; 50: 882-888
- 160 Lovejoy JC, Champagne CM, de Jonge L et al. *Increased visceral fat and decreased energy expenditure during the menopausal transition*. *Int J Obes* **2008**; 32: 949-958
- 161 Lea-Currie YR, Wen P, McIntosh MK. *Dehydroepiandrosterone reduces proliferation and differentiation of 3T3-L1 preadipocytes*. *Biochem Biophys Res Comm* **1998**; 248: 497-504
- 162 Nestler JE, Barlascini CO, Clore JN et al. *Dehydroepiandrosterone reduces serum low density lipoprotein levels and body fat but does not alter insulin sensitivity in normal men*. *J Clin Endocrinol Metab*. **1988** ;66:57-61
- 163 Mortola JF, Yen SS. *The effects of oral dehydroepiandrosterone on endocrine-metabolic parameters in postmenopausal women*. *J Clin Endocrinol Metab* **1990**; 71: 696-704
- 164 Mattson LA, Cullberg G, Tangkeo P et al. *Administration of dehydroepiandrosterone to oophorectomized women- effects on sex hormones and lipid metabolism*. *Maturitas* **1980**; 2:301-309
- 165 Ivandic A, Preplic-Kricevac I, Jakic M et al. *Changes in sex hormones during an oral glucose tolerance test in healthy premenopausal women*. *Fertil Steril* **1999**; 71: 268-271
- 166 Buffington CK, Givens JR, Kitabchi AF. *Opposing actions of dehydroepiandrosterone and testosterone on insulin sensitivity. In vivo*

-
- and in vitro studies of hyperandrogenic females.* Diabetes **1991**; 40: 693-700
- 167** Ebeling P, Stenman UH, Seppala M et al. *Acute hyperinsulinemia, androgen homeostasis and insulin sensitivity in healthy men.* J Endocrinol **1995**;146: 63-69
- 168** Mino D, Amato D, Cuevas MI et al. *Relationship of insulin resistance and overweight with cortisol and dehydroepiandrosterone-sulfate levels.* Arch Med Res **2002**;33: 524-530
- 169** Talaei A, Amini M, Siavash M et al. *The effect of DHEA on insulin resistance in patients with impaired glucose tolerance.* Hormones **2010**;9: 326-331
- 170** Abate N, Haffner SM, Garg A et al. *Sex steroid hormones, upper body obesity and insulin resistance.* J Clin Endocrin Metab **2002**; 87: 4522-4527
- 171** Wellman M, Shane-McWhorter L, Jennings JP. *The role of dehydroepiandrosterone in diabetes mellitus.* Pharmacotherapy **1999** ;19: 582-91
- 172** Casson PR, Toth MJ, Johnson JV et al. *Correlation of serum androgens with anthropometric and metabolic indices in healthy nonobese postmenopausal women.* Clin Endocrinol Metab **2010**; 95:4276-4282
- 173** Flynn Ma, Weaver-Osterholtz D, Sharpe-Timms KL et al. *Dehydroepiandrosterone replacement in aging humans.* J Clin Endocrinol Metab. **1999**; 84: 4748-9
- 174** Villareal DT, Holloszy JO. *Effect of DHEA on abdominal fat and insulin action in elderly women and men.* JAMA **2004**; 292: 2243-8
- 175** H Kawano, H Yasue, A Kitagawa et al. *Dehydroepiandrosterone supplementation improves endothelial function and insulin sensitivity in men.* J Clin Endocrinol Metab **2003**; 88: 3190–3195
- 176** Casson PR, Santero N, Elkind-Hirsch KE et al. *Postmenopausal dehydroepiandrosterone administration increases free insulin-like*

-
- growth factor-I and decreases high –density lipoprotein: a six-month trial. Fertility and Sterility* **1998**; 70:107-110
- 177** Jankowski CM, Gozansky WS, Van Pelt RE et al. *Oral dehydroepiandrosterone replacement in older adults: effects on central adiposity, glucose metabolism and blood lipids. Clin Endocrinol* **2011**; 75: 456-463
- 178** Lasco A, Frisina N, Morabito N et al. *Metabolic effects of dehydroepiandrosterone replacement therapy in postmenopausal women. Eur J Endocrinol* **2001**; 145: 457-461
- 179** Jedrzejuk D, Medras M, Milewicz A et al. *Dehydroepiandrosterone replacement in healthy men with age-related decline of DHEA: effects on fat distribution, insulin sensitivity and lipid metabolism. Aging Male* **2003**; 6: 151-156
- 180** Dillon JS, Yaney BC, Zhou Y et al. *DHEA-S and beta-cell function: enhanced glucose-induced insulin secretion and altered gene expression in rodent pancreatic beta –cells. Diabetes* **2000**; 49:2012-2020
- 181** Villareal DT, Holloszy JO and Kohrt WM. *Effects of DHEA replacement on bone mineral density and body composition in elderly women and men. Clin Endocrinol* **2000**; 53: 561-568
- 182** Yang SC, Chen CY, Liao YH et al. *Interactive effect of an acute bout of resistance exercise and dehydroepiandrosterone administration on glucose tolerance and serum lipids in middle-age women. Chinese Journal of Physiology* **2005**; 1:23-29
- 183** Weiss EP, Villareal DT, Fontana L et al. *Dehydroepiandrosterone (DHEA) replacement decreases insulin resistance and lowers inflammatory cytokines in aging humans. Aging* **2011**; Vol 3. No 5
- 184** Paolisso G, Ammenola S, Rotonda M et al. *Insulin resistance and advancing age. What role for DHEA? Metab Clin Exp* **1997**; 46: 1281-1286
- 185** Grant DB. *Fasting serum insulin levels in childhood. Arch Dis Child* **1967**; 42: 375-378

-
- 186** Smith CP, Archibald HR, Thomas JM et al. *Basal and stimulated insulin levels rise with advancing puberty.* Clin Endocrinol **1988**; 28:7-14
- 187** Amiel SA, Sherwin RS, Simonson DC et al. Impaired insulin action in puberty. *A contributing factor to poor glycemic control in adolescents with diabetes.* N Engl J Med **1986**; 315:215-219
- 188** Bloch CA, Clemons P, Sperling MA. *Puberty decreases insulin sensitivity.* J Pediatr **1987**; 110: 481-487
- 189** Belgorosky A, Rivarola MA. *Progressive increase in non-sex hormone-binding globulin bound testosterone and estradiol from infancy to late prepuberty in girls.* J Clin Endocrinol Metab **1988**; 67: 234-237
- 190** Forest MG. Physiological changes in circulating androgens. In Forest MG ed. *Androgens in childhood, pediatric adolescent endocrinology.* Basel: Karger **1989**; 104-129
- 191** Guercio G, Rivarola MA, Chaler E et al. *Relationship between the GH/IGF-I axis, insulin sensitivity, and adrenal androgens in normal prepubertal and pubertal boys.* J Clin Endocrin Metab **2002**; 87:1162-1169
- 192** Guercio G, Rivarola MA, Chaler E et al. *Relationship between the GH/IGF-I axis, insulin sensitivity, and adrenal androgens in normal prepubertal and pubertal girls.* J Clin Endocrin Metab **2003** ; 88 :1389-1393
- 193** Small M, Gray LE, Beastall GH. *Adrenal androgens in Insulin Dependent Diabetes Mellitus.* Diabetes Res **1989**; 11:93-95
- 194** Meyer K, Deutscher J, Anil M et al. *Serum androgen levels in adolescents with type 1 diabetes: relationship to pubertal stage and metabolic control.* J Endocrinol Invest **2000**; 23: 362-368
- 195** Nakamura Y, Gang HX, Suzuki T et al. *Adrenal changes associated with adrenarche.* Rev Endocr Metab Disord. **2009**;10:19
- 196** Nagata K, Shimada S, Yamazoe Y. *Species differences in cytosolic sulfotransferases. Human cytosolic sulfotransferases;* Pacifici GM and Coughtrie MHW eds; **2005**; pps 253-278

-
- 197 Lindsay J, Wang LL, Li Y et al. *Structure, function and polymorphism of human cytosolic sulfotransferases*. *Curr Drug Metab*. **2008**; 9: 99-105
- 198 Falany CN. *Sulfation and sulfotransferases. Introduction: changing of sulfation and the cytosolic sulfotransferases*. *FASEB J* **1997**; 11: 1-2
- 199 Radominska A, Comer KA, Zimniak P et al. *Human liver steroid sulphotransferase sulphates bile acids*. *Biochem J* **1990**; 272: 597-604
- 200 Falany CN, Wheeler J, Oh TS et al. *Steroid sulfation by expressed human cytosolic sulfotransferases*. *J Steroid Biochem Mol Biol*. **1994**; 48: 369-375
- 201 Falany CN, Comer KA, Dooley TP et al. *Human DHEA sulfotransferase. Purification, molecular cloning and characterization*. *Ann NY Acad Sci* **1995a**: 774:59-72
- 202 Yamazoe Y and Kato R. *Structure and function of SULTS*. *Advances in Drug Metabolism in Man*. Pacifici GM and Fracchia GN eds. **1995**; 659-678
- 203 Ferry R, Hume R, Kaptein E et al. *Sulfation of thyroid hormone and dopamine during human development: ontogeny of phenol sulfotransferases and arylsulfatase in liver, lung and brain*. *J Clin Endocrinol Metab* **2001**; 86: 2734-2742
- 204 Suzuki T, Sasano H, Takeyama J et al. *Developmental changes in steroidogenic enzymes in human postnatal adrenal cortex: immunohistochemical studies*. *Clin Endocrinol* **2000**; 53:739-747
- 205 Thomae BA, Eckloff BW, Freimuth RR. *Human sulfotransferase SULT2A1 pharmacogenetics: genotype-to-phenotype studies*. *Pharmacogenomics* **2002**; 2:48-56
- 206 Zhai G, Teumer A, Stolk L et al. *Eight common genetic variants associated with serum DHEA-S levels suggest a key role in ageing mechanisms*. *PLoS Genetics* 2011; Apr; 7(4):e1002025.
- 207 Wilborn TW, Lang NP, Smith M et al. *Association of SULT2A1 allelic variants with plasma adrenal androgens and prostate cancer in African American men*. *J Steroid Biochem Mol Biol* **2006**; 99: 209-214

-
- 208 Goodarzi MO, Antoine HJ, Azziz R. *Genes for enzymes regulating dehydroepiandrosterone sulfonation are associated with levels of dehydroepiandrosterone sulfate in polycystic ovary syndrome.* J Clin Endocrin Metab. **2007**; 92: 2659-2664
- 209 Utriainen P, Laakso S, Jääskeläinen J et al. *Polymorphisms of POR, SULT2A1 and HSD11B1 in children with premature adrenarche.* Metabolism **2012** [Epub ahead of print]
- 210 Rodríguez Artalejo F, Garcés C, Gil A et al. *Four Provinces study: objectives and design.* Rev Esp Card **1999**; 52: 319-326A
- 211 Garcés C, de Oya M; Investigadores del estudio Cuatro Provincias. *Cardiovascular risk factors in children. Main findings of the Four Provinces study.* Rev Esp Cardiol. **2007** ;60:517-524
- 212 Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM et al. *Establishing a Standard definition for child overweight and obesity worldwide: internacional survey.* BMJ **2000**; 320: 1240-1243
- 213 Allain C, Poons L, Chang C et al. *Enzymatic determination of total serum cholesterol.* Clin Chem **1974**; 20: 470-475
- 214 Assmann G, Shrlower H, Schmitz G. *Quantification of high density lipoprotein cholesterol by precipitation with fosfotungstic acid/MgCl₂.* Clin Chem **1983**; 29: 2026-2030
- 215 Burstein M, Scholnick H, Morfin R. *Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions.* J Lipid Res **1970**; 11: 583-595
- 216 Buccolo G, David H. *Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes.* Clin Chem **1973**; 19: 476-482
- 217 Friedewald W, Levy R, Fredrikson D. *Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge.* Clin Chem **1972**; 18: 499-502
- 218 Marcovina S, Alberts J, Henserson O et al. *Internacional Federation of Clinical Standardizaton Project for measurement of apolipoproteins AI and B. Comparability of apolipoproteins AI values by use of international reference material.* Clin Chem **1993**; 39:773-781

-
- 219 Sizonenko PC. *Endocrinology in preadolescents and adolescents. Hormonal changes during normal puberty.* Am J Dis Chile **1978**; 132: 704-712
- 220 Cano B, de Oya M, Benavente M, et al. *Dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) distribution in Spanish prepuberal children: relationship with fasting plasma insulin concentrations and insulin resistance.* Clin Chim Acta. **2006**;366:163-167
- 221 O Reiter E, Fuldauer VG, Root AW. *Secretion of the adrenal androgen, dehydroepiandrosterone sulphate, during normal infancy, childhood and adolescence in sick infants and in children with endocrinologic abnormalities.* J Pediat **1977**; 90: 766-770
- 222 Siemensma EP, de Lind van Wijngaarden RF, Otten BJ et al. *Pubarche and serum dehydroepiandrosterone sulphate levels in children with Prader-Willi syndrome.* Clin Endocrinol. **2011** doi: 10.1111/j.1365-2265.2011.03989.x. [Epub ahead of print]
- 223 Martin D, Schwizer R, Schwarze P et al. *The early DHEA-S rise of adrenarche and the delay of pubarche indicate primary ovarian failure in Turner syndrome.* J Clin Endocrin Metab **2004**;89:1164-1168
- 224 Hopper BR, Yen SSC. *Circulating concentrations of DHEA and DHEA-S during puberty.* J Clin Endocrinol Metab **1975**; 40:458
- 225 Mayoungou D, Gass R, Emane M et al. *Plasma DHEA, its sulphate, testosterone and FSH during puberty of African children in Gabon.* J Steroid Biochem **1986**; 24: 645-651
- 226 Sulcová J, Hill M, Hampl R et al. *Age and sex related differences in serum levels of unconjugated dehydroepiandrosterone and its sulphate in normal subjects.* J Endocrin **1997**; 154 : 57-62
- 227 Carlström K, Brody S, Lunell NO et al. *Dehydroepiandrosterone sulphate and DHEA in serum: differences related to age and sex.* Maturitas **1988**; 10(4): 297-306.
- 228 Laughlin and Barret-Connor. *Sexual dimorphism in the influence of advanced aging on adrenal hormone levels: the Rancho Bernardo Study.* J Clin Endocrin Metab **2000**; 85:3568

-
- 229 Laatikainen T, Laitinen EA, Vinko R. *Secretion of free and sulfate conjugated neutral steroids by the human testis*. J Clin Endocrinol Metab **1971**; 32: 59
- 230 Perry RJ, Farquhar C, Ahmed SF. *The role of sex steroids in controlling pubertal growth*. Clin Endocrinol (Oxf) **2008**; 68:4-15
- 231 Veldhuis JD, Roemmich JN, Richmond EJ et al. *Endocrine control of body composition in infancy, childhood and puberty*. Endocrin Rev **2005**; 26: 114-146
- 232 Van Hooff MHA, Voorhorst FJ, Kaptein MBH et al. *Insulin, androgen and gonadotropin concentrations, body mass index and waist to hip ratio in the first years after menarche in girls with regular menstrual cycles, irregular menstrual cycles or oligomenorrhea*. J Clin Endocrinol Metab **2000**; 85: 1394-1400
- 233 Wabitsch M, Hauner H, Heinze E et al. *Body fat distribution and steroid hormone concentrations in obese adolescent girls before and after weight reduction*. J Clin Endocrinol Metab **1995**; 80: 3469-3475
- 234 Arquitt AB, Stoecker BJ, Hermann JS et al. *DHEA-S, cholesterol, hemoglobin, and anthropometric measures related to growth in male adolescents*. J Am Diet Assoc **1991** ;91:575-79
- 235 Baer HJ, Colditz GA, Willett WC et al. *Adiposity and sex hormones in girls*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **2007**; 16:1880-1888
- 236 Ruiz-Pérez L, Álvarez Cascos M, Zubiaur A et al. *Lipid profile and hormonal study in the schoolchildren of the province of Alicante*. Endocrinol Nutr **2009**; 56:158-163
- 237 L'Allemand D, Schmidt S, Rousson V et al. *Associations between body mass, leptin, IGF-I and circulating adrenal androgens in children with obesity and premature adrenarche*. Eur J Endocrinol **2002**; 146:537-543
- 238 Genazzani AR, Pintor C, Corda R. *Plasma levels of gonadotropins, prolactin, thyroxine and adrenal and gonadal steroids in obese prepubertal girls*. J Clin Endocrinol Metab **1978**; 47:974-979

-
- 239 Silben ME, Denburg MR, Manibo AM et al. *Early endocrine, metabolic and sonographic characteristics of polycystic ovary syndrome (PCOS): comparison between nonobese and obese adolescents.* J Clin Endocrinol Metab **2003**; 88:4682-4688
- 240 De Ridder CM, Bruning PF, Zonderland MEL et al. *Body fat mass, body fat distribution and plasma hormones in early puberty in females.* J Clin Endocrinol Metab **1990**; 70:888-893
- 241 De Ridder CM, Thijssen JH, Bruning PF et al. *Body fat mass, body fat distribution and pubertal development: a longitudinal study of physical and hormonal sexual maturation of girls.* J Clin Endocrinol Metab **1992**; 75:442-446
- 242 Gapstur SM, Gann PH, Kopp P et al. *Serum androgen concentrations in young men: a longitudinal analysis of associations with age, obesity and race. The CARDIA male hormone study.* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev **2002**; 11: 1041-1047
- 243 Khaw KT, Barrett-Connor E. *Lower endogenous androgens predict central adiposity in men.* Ann Epidemiol **1992**; 2: 675-682
- 244 Kirschner MA, Samojlik E, Silber D. *Comparison of androgen production and clearance in hirsute and obese women.* J Steroid Biochem. **1983**; 19: 607-614
- 245 Derby CA, Zilber S, Brambilla D et al. *Body mass index, waist circumference and waist to hip ratio and change in sex steroid hormones: the Massachusetts Male Ageing Study.* Clin Endocrinol **2006**; 65: 125-131
- 246 Vaidya D, Dobs A, Gapstur SM et al. *Association of baseline sex hormone level with baseline and longitudinal changes in waist-to-hip ratio: Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis.* Int J Obes **2012** PMID:22270378 [Epub ahead of print]
- 247 Herranz L, Megia A, Grande C et al. *Dehydroepiandrosterone sulphate, body fat distribution and insulin in obese men.* Int J Obes **1995**; 19: 57-60

-
- 248 William DP, Boyden TW, Pamentier RW et al. *Relationship of body fat percentage and fat distribution with DHEA-S in premenopausal females.* J Clin Endocrinol Metab **1993**; 77: 80-85
- 249 Wada K, Nakamura K, Tamai Y et al. *Associations of birth weight and physical activity with sex steroids in preschool Japanese children.* Cancer Causes Control **2012**; 23: 2321-238
- 250 Ghirri P, Bernardini M, Vuerich AMR et al. *Adrenarche, pubertad development, age at menarche and final height of full-term, born small for gestational age (SGA) girls.* Gynecol Endocrinol **2001**; 15: 91-97
- 251 Tenhola S, Martikainen A, Rabiala E et al. *Increased adrenocortical and adrenomedullary hormonal activity in 12-year-old children born small for gestational age.* J Pediatr **2002**; 141: 477-482
- 252 Ibáñez L, López-Bermejo A, Díaz M et al. *Match-up growth in girls born small for gestational age precedes childhood progression to high adiposity.* Fertility and Sterility. **2011**; 96: 220-223
- 253 Garcés C, Benavente M, Ortega H et al. *Influence of birth weight on the apo E genetic determinants of plasma lipid levels in children.* Pediatr Res. **2002**; 52: 873-878
- 254 Curcoy Barcenilla AI, Trenchs Sáinz de la Maza V, Ibáñez Toda L et al. *Influence of birthweight on the onset and progression of puberty and final height in precocious pubarche.* Ann Pediatr **2004**; 60:436-439
- 255 Rosenfield RL. *Clinical Review: Identifying children at risk for polycystic ovary syndrome.* J Clin Endocrinol Metab. **2007**; 92:787
- 256 Neville KA, Walter JL. *Precocious pubarche is associated with SGA, prematurity, weight gain and obesity.* Arch Dis Child. **2005**; 90:258-261
- 257 Ong KK, Potau N, Petry CJ et al. *Opposing influences of prenatal and postnatal weight gain on adrenarche in normal boys and girls.* J Clin Endocrinol Metab **2004**; 89: 2647-2651
- 258 Ruder EH, Hartman TJ, Rovine MJ et al. *Birth characteristics and female sex hormone concentrations during adolescence: results from the*

-
- Dietary Intervention Study in Children*. *Cancer Causes Control* **2011**; 22:611-621
- 259 Wang Y, Dinse GE, Rogan WJ. *Birth weight, early weight gain and pubertal maturation: a longitudinal study*. *Pediatr Obes* **2012**; 7: 101-109
- 260 Schunkert H, Hense HW, Andus et al. *Relation between DHEA-S and blood pressure levels in a population-based sample*. *Am J Hypert* **1999**; 12: 1140-1143
- 261 Muller M, Grobbee DE, den Tonkelaar I et al. *Endogenous sex hormones and metabolic syndrome in aging men*. *J Clin Endocrinol Metab* **2005**; 90: 2618-2623
- 262 Hautanen A, Manttari M, Manninen V et al. *Adrenal androgens and testosterone as coronary risk factors in the Helsinki Heart Study*. *Atherosclerosis* **1994**; 105: 191-200
- 263 La Croix AZ, Yano K and Reed DM. *Dehydroepiandrosterone sulfate, incidence of myocardial infarction and extent of atherosclerosis in men*. *Circulation* **1992**; 86: 1529-1535
- 264 Gannagé-Yared MH, Chedid R, Abs L. *Relation between androgens and cardiovascular risk factors in a young population*. *Clin Endocrin* **2011**; 74: 720-725
- 265 Munter P, He J, Cutler JA et al. *Trends in blood pressure among children and adolescents*. *J Am Med Assoc* **2004**; 291: 2107-2113
- 266 Din-Dzietham R, Liu Y, Bielo MV et al. *High blood pressure trends in children and adolescents in national surveys, 1963 to 2002*. *Circulation* **2007**; 116: 1488-1496
- 267 Hansen ML, Gunn PW, Kaelber DC. *Underdiagnosis of hypertension in children and adolescents*. *J Am Med Assoc* **2007**; 298: 874-879
- 268 McNiece KL, Poffenbarger TS, Turner JL et al. *Prevalence of hypertension and pre-hypertension among adolescents*. *J Pediatr* **2007**; 150: 640-644

-
- 269 Torrance B, McGuire KA, Lewonczuk R et al. *Overweight, physical activity and high blood pressure in children. A review of literature.* Vascular Health and Risk Management **2007**; 3: 139-149
- 270 Clarke WR, Woolson RF, Lauer RM et al. *Changes in ponderosity and blood pressure in childhood: The Muscatine Study.* Am J Epidemiol **1986**; 124: 195-206
- 271 Munter P, He J, Cutler JA et al. *Trends in blood pressure among children and adolescents.* JAMA **2004**; 291: 2107-2113
- 272 Falkner B, Gidding SS, Ramirez-Garnica G et al. *The relationship of BMI and blood pressure in primary care pediatric patients.* J Pediatr **2006**; 148: 195-200
- 273 Morrison JA; Laskarzewski PM, Rach JL et al. *Lipids, lipoproteins and sexual maturation during adolescence: The Princeton Maturation Study.* Metabolism **1979**; 28: 641
- 274 Berenson GS, Srinivasan SR, Cresanta JL et al. *Dynamic changes of serum lipoproteins during adolescence and sexual maturation.* Am J Epidemiol **1981**; 113: 157
- 275 Insull W, Kirkland RT, Probstfield JL et al. *Control of HDL-cholesterol plasma levels by testosterone in pubertal males.* Circulation **1981**; 64: 113
- 276 Laskarzewski PM, Morrison JA, Gutai J et al. *High and low density lipoprotein cholesterol in adolescent boys: relationship with endogenous testosterone, estradiol, and Quetelet index.* Metabolism **1983**; 32: 262
- 277 Srinivasan SR, Sundaram GS, Williamson GD et al. *Serum lipoproteins and endogenous sex hormones in early life: observations in children with different lipoprotein profiles.* Metabolism **1985**; 34: 861
- 278 Boulton T, Magarey A, Cockington R. *Serum lipids and apolipoproteins from 1 to 15 years: changes with age and puberty, and relationship with diet, parental cholesterol and family history of ischaemic heart disease.* Acta Paediatr **1995**; 84: 1113-1118
- 279 López D, Gil A, de Oya M. *Estudio NICAM: colesterol en niños y fenómeno de persistencia.* Libro: Enfermedades cardiovasculares.

Nutrición, genética y epidemiología. Editores: de Oya M y Garcés C. Edit. Doyma **2000**: 51-60

280 Kirkland R, Keenan B, Probstfield J et al. *Decrease in plasma high-density lipoprotein cholesterol levels at puberty in boys with delayed adolescent. Correlation with plasma testosterone levels.* JAMA **1987**; 257: 502-507

281 Morrison J, Sprecher D, Biro F et al. *Serum testosterone associates with lower high-density lipoprotein cholesterol in black and white males, 10 to 15 years of age, through lowered apolipoprotein AI and AII concentration.* Metabolism **2002**; 51: 432-437

282 Barret-Connor E, Wingard D, Criqui M. *Postmenopausal estrogen use and heart disease risk factors in the 1980s.* JAMA **1989**; 261:2095-2100

283 Te Velde E, Van Leusden Huub A. *Hormonal treatment for the climacteric: alleviation of symptoms and prevention of postmenopausal disease.* Lancet **1994**; 343: 654-658

284 Garcés C, Oya I, Lasunción MA et al. *Sex hormona-binding globulin and lipid profile in pubertal children.* Metabolism **2010**; 59:166-171

285 Abbasi A, Duthie EH, Sheldahl L et al. *Association of DHEA-S, body composition and physical fitness in independent community-dwelling older men and women.* J Am Geriatr Soc **1998**; 46: 263-273

286 Gannagé-Yared MH, Chedid R, Abs L. *Relation between androgens and cardiovascular risk factors in a young population.* Clin Endocrinol (Oxf). **2011** ;74:720-5

287 Bell RJ, Davison RL, Papalia MA et al. *Endogenous androgens levels in cardiovascular risk profile in women across the adult life span.* Menopause **2007**; 14: 630-638

288 Wiltgen D & Spritzer PM. *Variation in metabolic and cardiovascular risk in women with different polycystic ovary syndrome phenotypes.* Fertility and Sterility **2010**;94:2493-2496

289 Srinivasan SR, Freedman DS, Sundaram GS et al. *Racial (black-white) comparisons of the relationship of levels of endogenous sex*

-
- hormones to serum lipoproteins during male adolescence: the Bogalusa Heart Study. Circulation* **1986**; 74: 1226-1234
- 290** Caprio S, Plewe G, Diamond MP et al. *Increased insulin secretion in puberty: a compensatory response to reductions in insulin sensitivity. J Pediatr* **1989**; 114:963-967
- 291** Potau N, Ibañez L, Riqué S et al. *Pubertal changes in insulin and peripheral insulin sensitivity. Horm Res* **1997**; 48: 219-226
- 292** Smith CP, Dunger DB, Williams AJ et al. *Relationship between insulin, insulin-like growth factor I, and DHEA-S concentrations during childhood, puberty, and adult life. J Clin Endocrinol Metab* **1989**;68: 932-937
- 293** De Sousa G, Brodowski C, Cléber M et al. *Association between androgens, intima-media thickness and the metabolic syndrome in obese adolescent girls. Clin Endocrin* **2010**; 72: 770-774
- 294** Vogiatzi MG, Boeck MA, Vlachopapadopoulou E et al. *DHEA in morbidly obese adolescents: effects on weight, body composition, lipids, and insulin resistance. Metabolism* **1996**; 45:1011-1015
- 295** Gómez-Santos C, Larqué E, Granero E et al. *DHEA-S replacement improves the human plasma fatty acid profile in plasma of obese women. Steroids* **2011**; 76: 1425–1432.
- 296** Hernandez-Morante JJ, Cerezo D, Cruz RM et al. *DHEA-S modifies human fatty acid composition of different adipose tissue depots. Obes Surg.* **2011**; 21:102-111.
- 297** Imai K, Kudo N, Koyama M et al. *Effects of dehydroepiandrosterone on oleic acid accumulation in rat liver. Biochem Pharmacol.* **2003**; 65:1583–1591.
- 298** de Heredia FP, Larqué E, Zamora S et al. *Dehydroepiandrosterone modifies rat fatty acid composition of serum and different adipose tissue depots and lowers serum insulin levels. J Endocrinol.* **2009**; 201
- 299** Mai K, Bobbert T, Kullmann V et al. *Free fatty acids increase androgens precursors in vivo. J Clin Endocrinol Metab* **2006**; 91: 1501-1507

-
- 300 Longcope C, Franz C, Morello C et al. Steroid and gonadotropin levels in women during the perimenopausal years. *Maturitas* **1986**; 8: 189-196
- 301 Labrie F, Belanger A, Cusan L et al. *Marked decline in serum concentrations of adrenal C19 sex steroid precursors and conjugated androgen metabolites during aging.* *J Clin Endocrinol Metab* **1997**; 82: 2396-2402
- 302 Spark RF. *Dehydroepiandrosterone: a springboard hormone for female sexuality.* *Fertility and Sterility* **2002**; 77: S19-S25
- 303 Haluzík M, Matoulek M, Svacina S et al. *The influence of short-term fasting on serum leptin levels, and selected hormonal and metabolic parameters in morbidly obese and lean females.* *Endocr Res.* **2001**; 27:251-260.
- 304 Haren MT, Banks WA, Perry HM et al. *Predictors of serum testosterone and DHEA-S in African-American men.* *Int J Androl* **2008**; 31: 50-59
- 305 Błogowska A, Rzepka-Górska I, Krzyzanowska-Swiniarska B. *Body composition, dehydroepiandrosterone sulfate and leptin concentrations in girls approaching menarche.* *J Pediatr Endocrinol Metab* **2005**; 18: 975-983.
- 306 Cizza G, Dorn LD, Lotsikas A et al. *Circulating plasma leptin and IGF-1 levels in girls with premature adrenarche: potential implications of a preliminary study.* *Horm Metab Res.* **2001**; 33:138-143.
- 301 Foulkes Ma, Davis CE. *An index of tracking for longitudinal data.* *Biometrics* **1981**; 37: 439-446
- 308 Twisk JWR, Kemper HCG, Mellebergh CJ. *Mathematical and analytic aspect of tracking.* *Epidemiol Rev* **1994**; 16: 165-183
- 309 Rosner B, Hennekens CH, Kass EH. *Age specific correlation analysis of longitudinal blood pressure data.* *Am J Epidemiol* **1977**; 106: 306-313
- 310 Serdula MK, Ivery D, Coates RJ et al. *Do obese children become obese adults? A review of literature.* *Prev Med* **1993**; 22:167-177

-
- 311 Parsons TJ, Power C, Logan S et al. *Childhood predictors of adult obesity: a systematic review*. *Int J Obes Relat Metab Disord* **1999**; 23:100-107
- 312 Whitaker RC, Wright JA, Pepe MS et al. *Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity*. *N Engl J Med* **1997**; 337:869-873
- 313 Williams S, Davie G, Lam F. *Predicting BMI in young adults from childhood data using two approaches to modelling adiposity rebound*. *Int J Obes Relat Metab Disord* **1999**; 23: 348-354
- 314 del Villar Rubín S, Escorihuela R, García-Anguita A et al. *Valoración de la evolución temporal del sobrepeso desde la edad prepuberal a la adolescencia*. *Ann Ped* **2012**
- 315 Webber LS, Srinivisan SR, Wattigney WA et al. *Tracking of serum lipids and lipoproteins from childhood to adulthood. The Bogalusa Heart Study*. *Am J Epidemiol* **1991**; 133: 884-899
- 316 del Villar-Rubín S, Escorihuela R, García-Anguita A et al. *High tracking of apolipoprotein B from the prepubertal age to adolescence in Spanish children*. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine* **2012**