

# Valores de referencia de FSH, LH, testosterona total, testosterona libre, 17- $\beta$ -estradiol y SHBG en niños sanos zaragozanos

A. Cortés Blanco, A. Ferrández Longás\*, E. Mayayo Dehesa\*, J.I. Labarta Aizpún\*

**Resumen.** *Objetivo:* Estimar los valores de referencia de las concentraciones séricas basales de hormona foliculoestimulante (FSH), hormona luteoestimulante (LH), testosterona total, testosterona libre, 17- $\beta$ -estradiol (E2) y proteína transportadora de hormonas sexuales (SHBG) en niños sanos zaragozanos.

*Métodos:* La población de referencia de este estudio transversal han sido niños sanos de 0-14 años, con peso y talla normales, residentes en el área urbana de Zaragoza. Se han determinado las concentraciones séricas basales de FSH, LH y SHBG por ensayo inmunoradiométrico y las de testosterona total, testosterona libre y E2 por radioinmunoanálisis. Se han estimado los valores e intervalos de referencia según las recomendaciones de la Federación Internacional de Química Clínica.

*Resultados:* Los valores de referencia se han clasificado según edad, sexo y estadio puberal. Las concentraciones séricas de FSH, LH, testosterona total y libre y E2 aumentan en el primer semestre, permanecen bajas y estables en la infancia y se incrementan en la pubertad con marcadas diferencias entre sexos. Los niveles séricos de SHBG varían con la edad, y en la pubertad entre sexos.

*Conclusiones:* Las diferencias en los valores de referencia de gonadotropinas, esteroides sexuales y SHBG durante la infancia, niñez y adolescencia, hacen necesario que cada población establezca sus propios valores en función de la edad, sexo y estadio puberal.

*An Esp Pediatr 1999;51:159-166.*

**Palabras clave:** Hormona foliculoestimulante; Hormona luteoestimulante; Testosterona; Estradiol.; Infancia; Pubertad; Valores de referencia.

## REFERENCE VALUES FOR FSH, LH TOTAL TESTOSTERONE, FREE TESTOSTERONE, 17- $\beta$ - ESTRADIOL AND SHBG IN HEALTHY CHILDREN OF ZARAGOZA

**Abstract:** *Objective:* Our purpose was to estimate reference values for basal serum concentrations of follicle-stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), total testosterone, free testosterone, 17- $\beta$ -estradiol (E2) and sex steroid binding globulin (SHBG) in healthy children of Zaragoza.

*Patients and methods:* The reference population consisted of healthy children between 0 and 14 years of age with normal weight and height and living in the metropolitan area of Zaragoza (Spain). It was a transversal study. Basal serum concentrations of FSH, LH and SHBG were measured by immunoradiometric assay. Basal serum

concentrations of total testosterone, free testosterone and E2 were analyzed by radioimmunoassay. Reference values and ranges were estimated according to the recommendations of the International Federation of Clinical Chemistry.

*Results:* Reference values have been classified by age, sex and pubertal stage. Serum concentrations of FSH, LH, total testosterone, free testosterone and E2 increase during the first six months, remain low in infancy and rise during puberty. All of these concentrations showed marked differences according to sex. Serum SHBG levels are influenced by age and during puberty by sex.

*Conclusions:* Differences in reference values for gonadotrophins, sex steroids and SHBG during infancy, childhood and adolescence makes it necessary for every population to establish their own reference values according to age, sex and pubertal stage.

**Key words:** Follicle-stimulating hormone. Luteinizing hormone. Testosterone. Estradiol. Childhood. Puberty. Reference values.

## Introducción

La valoración funcional del eje hipotálamo-hipofiso-gonadal es fundamental para estudiar las alteraciones evolutivas de la pubertad. La quiescencia gonadotrófica de la niñez implica que estudiar basalmente este eje no sea productivo en la pre-pubertad, salvo que se sospeche una activación prematura del mismo. La prueba ideal para estudiar la función testicular es la determinación sérica de testosterona total, junto con la proteína transportadora de hormonas sexuales (SHBG) y la testosterona libre. El estudio de la función ovárica debe incluir determinaciones séricas basales de esteroides sexuales femeninos, principalmente 17- $\beta$ -estradiol (E2), junto con SHBG y gonadotropinas (hormona foliculoestimulante –FSH- y hormona luteoestimulante –LH-).

Las concentraciones séricas de gonadotropinas y esteroides sexuales varían con la edad y desarrollo puberal, y entre sexos en la pubertad<sup>(1-13)</sup>. Se ha descrito un periodo de activación del eje hipotálamo-hipofiso-gonadal durante el primer semestre<sup>(14)</sup> y tras la adrenarquía<sup>(15)</sup>. Al igual que los esteroides sexuales, SHBG varía con la edad<sup>(10,16)</sup> y a partir de la pubertad entre sexos<sup>(17)</sup>.

El diagnóstico de las alteraciones puberales y/o gonadales precisa disponer de valores de referencia de gonadotropinas, esteroides sexuales y SHBG en la población pediátrica. Así, el propósito de este trabajo ha sido estimar los valores e intervalos de referencia de las concentraciones séricas basales de FSH, LH, testosterona total, testosterona libre, E2 y SHBG en niños sanos

Especialista en Medicina Nuclear. \*Unidad de Endocrinología Pediátrica. Hospital Infantil Miguel Servet. Zaragoza.

*Correspondencia:* Anabel Cortés Blanco. Domingo Ram 32, 3F. 50017 Zaragoza.

*Recibido:* Enero 1999

*Aceptado:* Febrero 1999

zaragozanos, mediante los inmunoensayos utilizados habitualmente en este medio.

## Material y métodos

### Población y muestra de referencia

La población de referencia ha sido la población sana de 0-14 años de edad y ambos sexos, residente en el área urbana de Zaragoza, con peso y talla normales -según estándares longitudinales aragoneses de 0-12 años<sup>(18)</sup>, y estándares de Tanner y Whitehouse de 12-14 años<sup>(19)</sup>-. Ha sido accesible aquella población de referencia de 0-30 días nacida en el Hospital Miguel Servet, de 1 mes-14 años que consultó a los pediatras de Atención Primaria del Insalud en el área urbana de Zaragoza, y los varones cursando 2º de Enseñanza Secundaria Obligatoria de un colegio de la ciudad (Obra Diocesana Santo Domingo de Silos).

Se han excluido aquellos niños con endocrinopatías, alteraciones del metabolismo o enfermedades sistémicas (fallo renal, cardiopatía, hipertensión arterial, enfermedades respiratorias crónicas, enfermedades hepáticas, síndromes de malabsorción y anemias nutricionales). También quienes recibían tratamiento farmacológico o sustitutivo, habían ingerido alimentos antes de la recogida de sangre o seguían una dieta. No se han incluido aquellos niños de 0-30 días nacidos tras un embarazo con complicaciones, por parto prematuro o prolongado, con puntuación del test de Apgar inferior a 7, y con antecedentes maternos o paternos de endocrinopatía.

Este estudio transversal con muestreo prospectivo de casos consecutivos ha requerido un tamaño muestral de 278 para la estimación de medias con un margen de error del 6% y un 95% de nivel de confianza<sup>(20)</sup>. Se ha reclutado una muestra un 10% mayor para elevar la precisión de la estimación<sup>(21)</sup>. Este estudio fue aprobado por la Comisión de Investigación del Hospital Miguel Servet.

De cada participante se recopiló la talla o longitud, peso y maduración puberal, según los estadios de Tanner para telarquia en niñas<sup>(22)</sup>, y de pubarquía en niños<sup>(19)</sup> junto con el volumen testicular en cc. medido con el orquidómetro de Prader. Se extrajo una muestra de sangre venosa a cada niño, tras consentimiento informado de los padres, de 8:00-10:30 horas, tras ayuno de 10-12 horas y en niñas con ciclos menstruales en el 5º-7º día del ciclo. En cordón se obtuvo sangre mezclada inmediatamente tras clampaje.

### VARIABLES

Las concentraciones séricas basales de FSH y LH se han determinado por ensayo inmunoradiométrico (IRMA) (Immunotech, Marseille Cedex, France). El intervalo normal de FSH del adulto varón es 1-8 UI/L y de la mujer en fase folicular 1,8-10,5 UI/L; de LH es 0,6-12,0 UI/L y 0,5-5,0 UI/L, respectivamente.

Los niveles séricos basales de testosterona total y libre se han analizado por radioinmunoanálisis (RIA) Coat-A-Count (DPC, Los Angeles, USA). El intervalo normal de testosterona total es 2,62-15,93 ng/ml para el adulto varón y 2,2-8,0 ng/ml para la mujer joven; los intervalos de testosterona libre son 13-40 pg/ml y 0,05-3,80 pg/ml, respectivamente.

Tabla I Edad de la muestra real

Grupo		FSH y LH		Test. total Test. libre SHBG		E2	
		X	DE	X	DE	X	DE
TANNER I							
4-30 días	M	17,0	7,3	17,7	7,7	16,0	6,7
	F	16,3	6,0	16,3	6,0	16,7	7,0
1-6 meses	M	3,5	1,4	3,2	1,6	3,5	1,4
	F	2,3	0,7	2,3	0,7	2,3	0,7
6 m-4 años	M	2,1	1,0	2,1	1,0	2,2	1,1
	F	2,0	1,1	2,0	1,1	1,9	1,1
4-7 años	M	5,5	0,8	5,6	0,8	5,4	0,8
	F	5,7	0,8	5,7	0,8	5,7	0,8
7-10 años	M	8,3	0,9	8,3	0,9	8,2	0,9
	F	8,3	0,9	8,3	0,9	8,4	0,9
10-14 años	M	11,6	1,2	11,7	1,2	11,6	1,2
	F	10,7	0,6	10,7	0,6	10,8	0,6
<i>FSH, LH, Test. total y libre, SHBG y E2</i>							
TANNER II	M	12,4	0,8				
	F	11,2	1,3				
TANNER III	M	12,7	0,3				
	F	11,8	0,8				
TANNER IV-V	M	13,4	0,4				
	F	13,3	1,0				
<i>M = masculino; F = femenino</i>							

Las concentraciones séricas basales de E2 se han obtenido por RIA Spectria Estradiol (Orion Diagnostica, Espoo, Finland), y las de SHBG mediante IRMA Spectria SHBG (Orion Diagnostica, Espoo, Finland). El intervalo normal de E2 del adulto varón es 17-196 pg/ml y 77-160 pg/ml para la mujer en fase folicular; el intervalo de SHBG es 12-75 nmol/L para el adulto varón y 20-140 nmol/L para la mujer.

### ANÁLISIS DE LOS DATOS

El programa informático SPSS 6.1.2 ha permitido el análisis estadístico de los datos. Se han estimado los valores e intervalos de referencia según las recomendaciones de la Federación Internacional de Química Clínica<sup>(23-28)</sup>. Se ha estudiado estadísticamente si convenía estratificar la muestra según edad, sexo y estadio puberal<sup>(29)</sup>. La modificación del método de Dixon<sup>(30)</sup> ha permitido analizar la existencia de valores aberrantes.

Los valores de referencia se han expresado como media aritmética (X) y mediana. Los intervalos de referencia incluían al 95% central de la distribución de referencia y se han calculado por el método paramétrico ( $X \pm 1,96DE$ ) o el método no paramétrico basado en el rango, siempre mediante valoración intuitiva según aconsejaban las mencionadas recomendaciones para muestras pequeñas<sup>(28)</sup>. La prueba de Kolmogorov-Smirnov ha permitido comprobar la bondad de ajuste de los datos a la distribución normal.

Tabla II Valores e intervalos de referencia de las concentraciones séricas basales de FSH en la población sana de 0-14 años de edad, residente en el área urbana de Zaragoza, según edad, sexo y estadio puberal

Grupo	M					FSH (mUI/ml)					n
	X	DE	Med	Intervalo	n	X	DE	Med	Intervalo	n	
TANNER I											
Cordón	0,30	0,42	0,13	0,01 - 1,31	10	0,03	0,02	0,02	0,01 - 0,07	9	
3 días	0,31	0,42	0,11	0,01 - 1,04	7	0,26	0,24	0,17	0,07 - 7,77	7	
4-30 días	1,86	2,11	1,36	0,11 - 7,94	14	8,36	8,52	5,72	0,29 - 30,90	18	
1-6 meses	0,99	0,61	0,85	0,20 - 1,77	8	8,11	6,06	7,23	1,69 - 18,72	6	
6 m-4 años	0,58	0,70	0,33	0,04 - 2,55	18	2,51	1,63	2,88	0,39 - 4,85	12	
4-7 años	0,40	0,37	0,32	0,01 - 1,16	22	1,49	1,14	1,21	0,31 - 4,84	23	
7-10 años	0,83	1,38	0,46	0,02 - 6,78	27	1,43	1,18	1,19	0,08 - 3,65	17	
10-14 años	1,70	1,14	1,48	0,01 - 4,81	31	2,69	2,89	1,81	0,40 - 7,54	5	
TANNER II	2,19	1,56	1,54	0,60 - 6,59	19	4,22	2,53	3,34	0,27 - 9,40	15	
TANNER III	1,88	1,22	2,10	0,16 - 3,33	8	5,87	1,99	5,34	3,18 - 8,99	11	
TANNER IV-V	2,34	1,41	2,31	0,73 - 4,02	4	5,29	2,20	5,56	0,96 - 7,75	8	
TOTALES					168					131	

M = masculino; F = femenino; X = media aritmética; DE = desviación estándar; Med = mediana; Intervalo = intervalo no paramétrico (P2,5-P97,5); n = tamaño muestral

Los cambios de concentración de FSH, LH, testosterona total y libre, E2 y SHBG, en relación con la edad, sexo y estadio puberal se han analizado mediante la prueba de la t de Student y U de Mann-Whitney, y el patrón global de cambio se ha descrito a partir de las concentraciones medias de los grupos. La homogeneidad de varianzas entre grupos se ha valorado mediante la prueba de Levene. El nivel de significación estadística establecido es  $p < 0,05$ .

## Resultados

### Valores e intervalos de referencia

La muestra de referencia consta de 313 voluntarios (175 niños y 138 niñas) que cumplen los criterios de inclusión del estudio. Se han obtenido 299 valores de concentración sérica de FSH, 299 de LH, 312 de testosterona total, 312 de testosterona libre, 273 de E2 y 308 de SHBG. Los valores de referencia de estos seis parámetros se han clasificado por estadios puberales y edad, en cada sexo por separado: Tanner I (cordón, 3 días, 4-30 días, 1-6 meses, 6 meses-4 años, 4-7 años, 7-10 años, 10-14 años), Tanner II, Tanner III y Tanner IV-V. No se ha eliminado ningún valor aberrante de concentración. La edad media de los niños se detalla en la tabla I.

La evolución de las concentraciones séricas basales de FSH, LH, testosterona total y libre, E2 y SHBG, en la población de referencia según edad, sexo y estadio puberal, se refleja en las Tablas II-VI. Los intervalos de referencia de LH, E2 y SHBG se han expresado como  $X \pm 1,96DE$  y el límite inferior del intervalo se ha omitido en algunos grupos (\*\*\*) por ser indetectable y se detalla el valor mínimo de concentración. Las concentra-

ciones de FSH, testosterona total y libre no siguen una distribución normal en todos los grupos y así, los intervalos de referencia se han expresado como el intervalo entre los percentiles 2,5 y 97,5.

### Cambios con relación al sexo

Se observan diferencias en los niveles de FSH en todos los grupos ( $p \leq 0,037$ ) –excepto en cordón, al tercer día y (10-14 años)–, siendo inferiores en varones. Los niveles de LH son superiores en varones en (4-30 días) y (1-6 meses) ( $p = 0,002$  y  $p = 0,013$  respectivamente), e inferiores en Tanner III y IV-V ( $p = 0,002$  y  $p = 0,029$ , respectivamente).

Las concentraciones de testosterona total y testosterona libre difieren entre sexos al tercer día, (4-30 días), (1-6 meses), (7-10 años) y todos los estadios puberales ( $p \leq 0,017$  y  $p \leq 0,028$ , para testosterona total y libre respectivamente), con niveles superiores en niños. Las concentraciones de E2 son diferentes entre sexos en (7-10 años) ( $p = 0,011$ ), Tanner II ( $p = 0,032$ ) y III ( $p = 0,003$ ) –siendo inferiores en niños–, y los niveles de SHBG son superiores en niños en (7-10 años) ( $p = 0,026$ ) y Tanner II ( $p = 0,020$ ).

### Cambios con relación a la edad y estadio puberal

En ambos sexos, las concentraciones de FSH son bajas hasta el tercer día, aumentan hasta el sexto mes ( $p = 0,028$  y  $p = 0,025$ , chicos y chicas respectivamente), cuando disminuyen a niveles estables hasta los 10 años. Aumentan en la fase tardía de la prepubertad y en pubertad ( $p < 0,001$  para ambos sexos), sin diferencias significativas entre estadios. El mismo patrón de cam-

Tabla III Valores e intervalos de referencia de las concentraciones séricas basales de LH en la población sana de 0-14 años de edad, residente en el área urbana de Zaragoza, según edad, sexo y estadio puberal

Grupo	LH (mUI/ml)											
	M						F					
	X	DE	Med	Intervalo	Mín	n	X	DE	Med	Intervalo	Mín	n
TANNER I												
Cordón	1,91	3,20	0,90	** - 8,18	0,01	10	0,18	0,16	0,16	** - 0,49	0,02	9
3 días	0,57	0,88	0,24	** - 2,29	0,01	7	0,08	0,09	0,05	** - 0,26	0,01	7
4-30 días	5,53	4,38	4,79	** - 14,11	0,79	14	0,95	1,30	0,47	** - 3,50	0,01	18
1-6 meses	2,88	2,14	2,76	** - 7,07	0,13	8	0,40	0,45	0,26	** - 1,28	0,01	6
6 m-4 años	0,39	0,28	0,36	** - 0,94	0,02	18	0,27	0,30	0,18	** - 0,86	0,02	12
4-7 años	0,32	0,27	0,28	** - 0,85	0,01	22	0,24	0,15	0,25	** - 0,53	0,01	23
7-10 años	0,26	0,24	0,24	** - 0,73	0,02	27	0,26	0,22	0,21	** - 0,69	0,01	17
10-14 años	1,01	0,81	0,73	** - 2,60	0,01	31	1,63	2,44	0,73	** - 6,41	0,29	5
TANNER II	1,50	0,90	1,47	** - 3,26	0,09	19	2,04	2,09	1,39	** - 6,14	0,21	15
TANNER III	1,78	0,60	1,75	0,60 - 2,96		8	4,64	2,33	4,76	** - 9,21	1,46	11
TANNER IV-V	1,58	0,72	1,69	0,17 - 2,99		4	4,10	1,87	4,27	0,43 - 7,77		8
TOTALES						168						131

M = Masculino; F = Femenino; X = media aritmética; DE = desviación estándar; Med = mediana; Intervalo = intervalo paramétrico (X±1,96DE); \*\* = Límite inferior omitido; Mín = mínimo; n = tamaño muestral

Tabla IV Valores e intervalos de referencia de las concentraciones séricas basales de testosterona total en la población sana de 0-14 años de edad, residente en el área urbana de Zaragoza, según edad, sexo y estadio puberal

Grupo	Testosterona total (ng/ml)										
	M						F				
	X	DE	Med	Intervalo	n	X	DE	Med	Intervalo	n	
TANNER I											
Cordón	2,59	1,88	2,13	1,19 - 7,80	10	3,71	3,40	2,39	1,33 - 12,30	9	
3 días	1,10	0,41	1,23	0,45 - 1,64	10	0,41	0,13	0,42	0,20 - 0,56	9	
4-30 días	1,44	0,76	1,45	0,29 - 3,26	16	0,13	0,09	0,09	0,05 - 0,41	18	
1-6 meses	1,40	1,32	1,31	0,05 - 4,15	9	0,07	0,03	0,07	0,04 - 0,11	6	
6 m-4 años	0,07	0,03	0,07	0,04 - 0,15	19	0,05	0,02	0,05	0,03 - 0,11	13	
4-7 años	0,08	0,04	0,07	0,03 - 0,16	21	0,09	0,03	0,09	0,04 - 0,14	23	
7-10 años	0,09	0,04	0,09	0,04 - 0,18	27	0,12	0,03	0,12	0,06 - 0,20	17	
10-14 años	0,44	0,76	0,15	0,07 - 3,32	31	0,13	0,05	0,11	0,08 - 0,20	5	
TANNER II	0,99	0,77	0,75	0,15 - 2,66	19	0,19	0,10	0,17	0,06 - 0,43	15	
TANNER III	3,02	1,73	3,08	1,07 - 5,59	8	0,23	0,12	0,20	0,08 - 0,51	12	
TANNER IV-V	3,91	1,34	3,71	2,68 - 5,56	4	0,21	0,08	0,21	0,13 - 0,35	11	
TOTALES					174					138	

M = Masculino; F = Femenino; X = media aritmética; DE = desviación estándar; Med = mediana; Intervalo = intervalo no paramétrico (P2,5-P97,5); n = tamaño muestral

bio presentan los niveles de LH en la prepubertad y en la pubertad no existen diferencias significativas entre estadios en los varones, y un pico máximo en III ( $p \leq 0,033$ ) y IV-V ( $p \leq 0,030$ ) en las niñas.

En niños, la concentración de testosterona total en cordón es alta, disminuye al tercer día ( $p=0,034$ ), se estabiliza hasta el sex-

to mes, es mínima durante el periodo 6 meses-7 años, aumenta progresivamente en la prepubertad ( $p < 0,001$ ) y en la pubertad hasta el estadio IV-V ( $p \leq 0,022$ ). En las niñas, las concentraciones máximas se observan en cordón y al tercer día -superiores en cordón ( $p=0,020$ )-, son bajas en el periodo 1 mes-7 años con la mínima en (6 meses-4 años) ( $p \leq 0,019$ ), y aumentan

Tabla V Valores e intervalos de referencia de las concentraciones séricas basales de testosterona libre en la población sana de 0-14 años de edad, residente en el área urbana de Zaragoza, según edad, sexo y estadio puberal

Grupo	Testosterona libre (pg/ml)									
	M					F				
	X	DE	Med	Intervalo	n	X	DE	Med	Intervalo	n
TANNER I										
Cordón	7,55	6,05	5,96	2,73 - 24,40	10	10,50	8,88	7,96	3,50 - 32,30	9
3 días	2,79	1,12	2,58	1,23 - 4,72	10	0,90	0,46	0,96	0,29 - 1,74	9
4-30 días	2,29	1,49	1,57	0,16 - 5,85	16	0,38	0,35	0,27	0,09 - 14,00	18
1-6 meses	1,31	1,28	0,78	0,12 - 3,43	9	0,18	0,08	0,17	0,06 - 0,30	6
6 m-4 años	0,18	0,07	0,19	0,07 - 0,30	19	0,21	0,13	0,18	0,08 - 0,51	13
4-7 años	0,30	0,24	0,24	0,05 - 1,22	22	0,28	0,15	0,24	0,07 - 0,60	23
7-10 años	0,34	0,22	0,28	0,07 - 0,97	27	0,50	0,45	0,34	0,24 - 1,49	17
10-14 años	1,11	1,72	0,51	0,21 - 8,21	31	0,41	0,16	0,42	0,70 - 0,65	5
TANNER II	1,89	1,28	1,52	0,56 - 5,13	19	0,59	0,26	0,62	0,38 - 0,97	14
TANNER III	8,06	4,63	9,56	2,08 - 13,66	8	0,95	0,62	0,86	0,27 - 2,64	12
TANNER IV-V	11,54	5,38	10,87	5,70 - 18,73	4	0,77	0,37	0,73	0,06 - 1,73	11
TOTALES					175					137

M = Masculino; F = Femenino; X = media aritmética; DE = desviación estándar; Med = mediana; Intervalo = intervalo no paramétrico (P2,5-P97,5); n = tamaño muestral.

Tabla VI Valores e intervalos de referencia de las concentraciones séricas basales de E2 en la población sana de 0-14 años de edad, residente en el área urbana de Zaragoza, según edad, sexo y estadio puberal

Grupo	E2 (pg/ml)											
	M						F					
	X	DE	Med	Intervalo	Mín	n	X	DE	Med	Intervalo	Mín	n
TANNER I												
Cordón	1270,1	302,2	1149,5	677,8 - 1862,4		8	1228,8	304,8	1191,0	631,4 - 1826,2		8
3 días	14,8	8,2	12,6	** - 30,9	5,2	8	13,5	10,0	10,3	** - 33,1	4,0	8
4-30 días	0,6	0,6	0,4	** - 1,8	0,1	11	1,6	2,5	0,6	** - 6,5	0,0	15
1-6 meses	2,8	3,4	1,4	** - 9,5	0,1	8	7,3	8,3	3,1	** - 23,6	0,8	6
6 m-4 años	3,1	2,5	2,7	** - 8,0	0,1	16	4,8	3,6	3,1	** - 11,9	0,2	11
4-7 años	3,5	3,6	2,8	** - 10,6	0,1	18	4,1	4,2	2,4	** - 12,3	0,4	22
7-10 años	2,4	2,1	1,5	** - 6,5	0,1	25	6,4	4,9	5,3	** - 16,0	0,9	14
10-14 años	4,6	5,8	2,2	** - 16,0	0,3	30	12,3	11,9	11,3	** - 35,6	1,4	4
TANNER II	7,3	3,7	7,1	** - 14,6	1,7	19	24,6	26,9	18,0	** - 77,3	0,3	14
TANNER III	13,4	9,5	14,0	** - 32,0	0,5	8	30,2	9,3	31,1	12,0 - 48,4		8
TANNER IV-V	12,2	4,9	11,3	2,6 - 21,8		4	31,2	18,5	31,0	** - 67,5	6,1	8
TOTALES						155						118

M = Masculino; F = Femenino; X = media aritmética; DE = desviación estándar; Med = mediana; Intervalo = intervalo paramétrico ( $X \pm 1,96DE$ ); \*\* = Límite inferior omitido; Mín = mínimo; n = tamaño muestral

ligeramente a los 7 años ( $p=0,002$ ) estabilizándose hasta la pubertad cuando aumentan de nuevo ( $p=0,014$ ) -sin diferencias entre estadios-. Las concentraciones de testosterona libre presentan este patrón de cambio descrito para testosterona total.

En ambos sexos, la concentración de E2 en cordón es máxima ( $p<0,001$ ), alta al tercer día, mínima en (4-30 días) ( $p\leq 0,018$

y  $p\leq 0,041$ , niños y niñas respectivamente), estable en el periodo prepuberal 1 mes-14 años y aumenta en pubertad sin diferencias significativas entre estadios.

Las concentraciones de SHBG en cordón y al tercer día son bajas en ambos sexos. Los niveles más altos se detectan en el periodo 1 mes-7 años ( $p\leq 0,031$  en niños y  $p\leq 0,047$  en niñas) que

Tabla VII Valores e intervalos de referencia de las concentraciones séricas basales de SHBG en la población sana de 0-14 años de edad, residente en el área urbana de Zaragoza, según edad, sexo y estadio puberal

Grupo	SHBG (nmol/L)										
	M					F					
	X	DE	Med	Intervalo	Mín	n	X	DE	Med	Intervalo	n
TANNER I											
Cordón	35,21	6,58	37,00	22,31 - 48,11		10	29,79	5,37	30,60	19,26 - 40,32	9
3 días	41,14	12,22	43,50	17,19 - 65,09		10	46,41	8,44	49,90	29,87 - 62,95	9
4-30 días	84,99	27,33	83,80	31,42 - 138,56		16	81,28	32,82	82,50	16,95 - 145,61	18
1-6 meses	118,27	35,80	108,40	48,10 - 188,44		9	115,52	39,50	118,45	38,10 - 192,94	6
6 m-4 años	107,53	38,47	103,40	32,13 - 182,93		19	94,88	38,22	98,00	19,97 - 169,79	13
4-7 años	104,87	23,31	103,95	59,18 - 150,56		22	91,95	24,21	92,90	44,50 - 139,40	23
7-10 años	100,34	29,64	93,00	42,25 - 158,43		27	81,13	21,71	82,40	38,58 - 123,68	17
10-14 años	81,89	26,45	83,50	30,05 - 133,73		31	72,94	26,27	73,30	21,45 - 124,43	5
TANNER II	88,74	22,55	84,40	44,54 - 132,94		19	70,46	19,24	76,55	32,75 - 108,17	14
TANNER III	54,98	32,51	50,85	** - 118,70	22,20	8	62,78	25,01	60,10	13,76 - 111,80	11
TANNER IV-V	48,28	17,70	54,45	13,59 - 82,97		4	58,23	19,40	58,65	20,21 - 96,25	8
TOTALES						175					133

M = Masculino; F = Femenino; X = media aritmética; DE = desviación estándar; Med = mediana; Intervalo = intervalo paramétrico (X±1,96DE); \*\* = Límite inferior omitido; Mín = mínimo; n = tamaño muestral

permanecen estables, y disminuyen a partir de los 10 años hasta completar la pubertad, significativamente en los varones ( $p \leq 0,005$ ).

## Discusión

Es importante que cada población disponga de valores propios de referencia de gonadotropinas, esteroides sexuales y SHBG, estimados por los inmunoensayos que se utilizan habitualmente en el medio. Nos consta que no existen estimaciones realizadas en niños mediante los inmunoensayos empleados en este estudio.

Herruzo et al.<sup>(31)</sup> describieron las concentraciones séricas de testosterona total, E2, FSH y LH, en sangre venosa umbilical de neonatos sanos granadinos. En ambos sexos, las concentraciones de los cuatro parámetros son muy superiores a las de nuestro estudio, excepto los niveles de testosterona total en las niñas que son similares.

Neely et al.<sup>(11)</sup> determinaron valores normales séricos basales de LH y FSH en población sana californiana, y los niveles de LH en varones prepúberes de 10-12 años son el 70% de los de nuestro grupo (10-14 años) y el doble para FSH. Ambos estudios coinciden en las concentraciones de gonadotropinas en estadios II y III para niños y niñas, excepto niveles de FSH en varones Tanner III inferiores y de LH en niñas Tanner II y III superiores en nuestro estudio.

Ropelato et al.<sup>(32)</sup> midieron las concentraciones séricas de gonadotropinas por RIA e inmunofluorimetría. Sus niveles prepuberales de LH en ambos sexos y de FSH en niños, medidos por RIA, son muy superiores a los de nuestros prepúberes de (4-7 años) y (7-10 años). Los niveles de FSH en niñas coinciden en

ambos estudios. Por inmunofluorimetría, las concentraciones prepuberales de LH son inferiores a las de nuestros grupos (4-7 años) y (7-10 años) y las de FSH similares. En estudio II, las concentraciones de FSH y LH en ambos sexos, medidas por ambas técnicas, son similares en los dos estudios.

El patrón de cambio en relación a la edad de las concentraciones de LH y FSH desde el nacimiento hasta el inicio de la pubertad coincide con descripciones previas<sup>(2,15,31,33,34)</sup>. No existen diferencias entre sexos en cordón, y sí en el periodo 4 días-10 años para FSH y 4 días-6 meses para LH. Algunos autores detectaron estas diferencias en cordón<sup>(31)</sup>, en el primer año<sup>(1,11)</sup>, en los dos primeros años<sup>(33,34)</sup>, y para FSH también en el periodo (1-10 años)<sup>(34)</sup>. Otros autores no observaron diferencias en la prepubertad en función del sexo<sup>(35)</sup>.

Las concentraciones séricas de FSH y LH se elevan en la pubertad, coincidiendo con otros trabajos<sup>(11,35,36)</sup>, y sin diferencias significativas entre estadios -excepto para LH en las niñas II vs III y II vs IV-V-. Lee et al.<sup>(34)</sup> no detectaron cambios significativos entre prepubertad y pubertad, y en la pubertad las diferencias entre estadios precoces y tardíos sólo fueron significativas en el sexo femenino. Moyano et al.<sup>(2)</sup> encontraron significación estadística al comparar II vs III en las niñas, y un incremento puberal gradual en niños solamente significativo entre los estadios I y V. Otros autores han observado un aumento significativo y progresivo de LH desde el estadio I al V en varones<sup>(12,13)</sup> y durante la pubertad en las niñas<sup>(36)</sup>. Los niveles de FSH y LH son superiores en el sexo femenino durante toda la pubertad, coincidiendo con el ligero retraso temporal en el incremento puberal de gonadotropinas de los varones respecto a las niñas descrito por Neely et al.<sup>(11)</sup>.

En los niños, los niveles de testosterona total en los periodos (4-7 años) y (7-10 años) son muy inferiores a los descritos por Winter et al.<sup>(7)</sup> en varones sanos canadienses de (4-6 años) y (6-8 años), son similares en estadio II y superiores en Tanner III. Frasier et al.<sup>(37)</sup> describieron niveles de testosterona total, medidos por técnicas de doble isótopo en varones californianos en Tanner II, III y IV, similares a los de nuestro estudio.

Las concentraciones de testosterona total y libre presentan un comportamiento muy similar, ya descrito por otros autores. Los niveles altos al nacer no presentan diferencias entre sexos<sup>(6)</sup>, bajan durante el primer semestre y son más altos en varones<sup>(3-5)</sup>, disminuyen en la prepubertad sin apenas diferencias entre sexos<sup>(37,38)</sup>, y se incrementan significativamente en la pubertad<sup>(37)</sup> de forma progresiva<sup>(2,17)</sup>, con niveles superiores en los niños en todos los estadios puberales<sup>(17)</sup>. El incremento puberal en los niños es significativo hasta Tanner III y gradual posteriormente, y en las niñas es gradual durante toda la pubertad con diferencias significativas sólo al comparar los estadios I y IV-V. Otros autores<sup>(38)</sup> observaron el aumento significativo en los niños a partir de Tanner III, distinguiéndose así de las niñas.

En ambos sexos, el límite superior del intervalo de referencia de E2 en los grupos (6 meses-4 años) y (4-7 años) es inferior al del periodo (1-6 años) recogido por Soldin<sup>(39)</sup>, y en el periodo (7-10 años) respecto al correspondiente de dichos autores. Los intervalos de referencia de SHBG en los grupos (6 meses-4 años), (4-7 años) y (7-10 años) son similares a los establecidos por Soldin et al.<sup>(40)</sup> en población norteamericana de (1-3 años), (4-6 años) y (7-9 años), respectivamente.

Las concentraciones séricas de E2 muestran importantes variaciones desde el nacimiento hasta la edad adulta<sup>(2,8,9)</sup> y así se constata. No se observan diferencias en cordón entre sexos, como ya se describió<sup>(6,31)</sup>. Las máximas concentraciones de E2 se detectan en cordón y al tercer día, coincidiendo con un rápido aumento descrito desde el nacimiento hasta el 5º-6º día relacionado con un origen materno y/o placentario. Disminuyen rápidamente a los niveles prepuberales que son estables y bajos<sup>(6)</sup> y no existen diferencias entre sexos<sup>(2)</sup>. En la pubertad no hay diferencias entre estadios, a diferencia del incremento significativo descrito por otros autores<sup>(2,15,36)</sup>, y los niveles de E2 son aproximadamente doble en niñas que en niños en los estadios III, IV y V, pero significativamente sólo en estadio II.

Como ya se había descrito, los niveles de SHBG son bajos en cordón y similares en ambos sexos<sup>(41)</sup>, aumentan a partir del mes a niveles estables prepuberales y descienden en pubertad, de forma progresiva y significativa entre estadios únicamente en varones<sup>(10)</sup>. En los estadios IV y V ya se habían descrito niveles ligeramente superiores en las mujeres<sup>(17)</sup>, pero no tenemos constancia de que otros autores detecten diferencias significativas entre sexos en estadio II.

Este estudio aporta intervalos de referencia propios de la población pediátrica sana zaragozana. Los rangos de edad establecidos durante el primer semestre son muy amplios y los posibles cambios de concentración descritos por otros autores<sup>(3-6)</sup> quedan enmascarados. La captación de participantes voluntarios

durante el primer semestre ha resultado difícil, debido a la baja disposición de los padres para conceder su consentimiento.

En conclusión, las diferencias en los valores de referencia de gonadotropinas, esteroides sexuales y SHBG durante la infancia, niñez y adolescencia hacen necesario que cada población establezca sus propios valores en función de la edad, sexo y estadio puberal. El rendimiento de tales determinaciones durante la prepubertad es muy limitado, excepto durante el periodo (4 días-6 meses) y concretamente de (4-30 días) para las gonadotropinas y el primer semestre para la testosterona total y libre en varones.

## Abreviaturas

**DE:** Desviación estándar

**E2:** 17- $\beta$ -estradiol

**FSH:** Hormona foliculoestimulante

**IRMA:** Ensayo inmunoradiométrico

**LH:** Hormona luteoestimulante

**RIA:** Radioinmunoanálisis

**SHBG:** Proteína transportadora de hormonas sexuales

**X:** Media aritmética

## Agradecimientos

Este agradecimiento va dirigido a los niños y padres participantes, y al Grupo Colaborativo por su contribución en la captación de niños, en la realización de las extracciones sanguíneas y en la ejecución de los inmunoanálisis. Una mención de gratitud para Rosario M<sup>a</sup> Gorostiza González por su ayuda técnica, al Dr. José Velilla Marco por su consejo estadístico y al Dr. Raúl Martínez Lázaro y M<sup>a</sup> Purificación Blanco Cortés por su colaboración en la recopilación de los datos.

## Bibliografía

- 1 Forest MG, Sizonenko PC, Cathiard AM, Bertrand J. Hypophyso-gonadal function in humans during the first year of life. I. Evidence for testicular activity in early infancy. *J Clin Invest* 1974; **53**:819-828.
- 2 Moyano D, Valls C, Pavía C, Ramón F. Valores de referencia de diversas magnitudes hormonales en niños clasificados según estadios puberales. *Rev Soc Esp Quim Clin* 1996; **15**:72-76.
- 3 Forest MG, Cathiard AM, Bertrand JA. Evidence of testicular activity in early infancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1973; **37**:148-151.
- 4 Forest MG, Cathiard AM, Bertrand JA. Total and unbound testosterone levels in the newborn and in normal and hypogonadal children: use of a sensitive radioimmunoassay for testosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1973; **36**:1132-1142.
- 5 Forest MG, Cathiard AM. Pattern of plasma testosterone and  $\Delta$ 4-androstenedione in normal newborns: evidence for testicular activity at birth. *J Clin Endocrinol Metab* 1975; **41**:977-980.
- 6 Winter JSD, Hughes IA, Reyes FI, Faiman C. Pituitary-gonadal relations in infancy: 2. Patterns of serum gonadal steroid concentrations in man from birth to two years of age. *J Clin Endocrinol Metab* 1976; **42**:679-686.
- 7 Winter JSD, Faiman C. Pituitary-gonadal relations in male children and adolescents. *Pediatr Res* 1972; **6**:126-135.
- 8 Chatelain P, Morel Y. Función ovárica. En: Diagnóstico endocrinológico funcional en niños y adolescentes. Ranke MB, editor. Madrid: Díaz de Santos; 1993. Madrid. p. 237-258.

- 9 Audí L, Granada ML. Valores de referencia en endocrinología pediátrica. In: Pombo M, editor. Tratado de Endocrinología Pediátrica. 2nd ed. Madrid: Díaz de Santos; 1997. p. 1293-1323.
- 10 Blank B, Attanasio A, Ranger K, Gupta D. Determination of sex hormone binding globulin (SHBG) in preadolescent and adolescent boys. *J Steroid Biochem* 1978; **9**:121-125.
- 11 Neely EK, Hintz RL, Wilson DM, et al. Normal ranges for immunochemiluminometric gonadotropin assays. *J Pediatr* 1995; **127**:40-46.
- 12 Kletter GB, Padmanbhan V, Brown MB, Reiter EO, Sizonenko PC, Beitins IZ. Serum bioactive gonadotropins during male puberty: a longitudinal study. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; **76**:432-438.
- 13 Wieland RG, Chen JC, Zorn EM, Hallberg MC. Correlation of growth, pubertal staging, growth hormone, gonadotropins, and testosterone levels during the pubertal growth spurt in males. *J Pediatr* 1971; **79**:999-1002.
- 14 Burger HG, Yamada Y, Bangah ML, McCloud PI, Warne GL. Serum gonadotropin, sex steroid, and immunoreactive inhibin levels in the first two years of life. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; **72**:682-686.
- 15 Rotteveel J, Ridder C, Schoute E, Delemarre-van de Waal H. Androstenedione dehydroepiandrosterone sulfate and estradiol levels throughout female puberty: relation to height velocity. *Horm Res* 1997; **48**:263-267.
- 16 Maruyama Y, Aoki N, Suzuki Y, et al. Sex-steroid-binding plasma protein (SBP), testosterone, oestradiol and dehydroepiandrosterone (DHEA) in prepuberty and puberty. *Acta Endocrinologia (Copenh)* 1987; **114**:60-67.
- 17 Argente J, Carrascosa A, Gracia R. Pruebas funcionales en Endocrinología Pediátrica y de la adolescencia. En: Argente J, Carrascosa A, Gracia R, Rodríguez F, editores. Tratado de Endocrinología Pediátrica y de la Adolescencia. Madrid: EDIMSA; 1995. p. 1075-1117.
- 18 Ferrández A, Labena C, Mayayo E, Rueda C, Ruiz-Echarri M, Puga B. Estudio longitudinal del crecimiento y desarrollo (datos de 0 a 12 años). Zaragoza: Departamento de Sanidad, Bienestar Social y Trabajo del Gobierno de Aragón; 1996.
- 19 Tanner JM, Whitehouse RH. Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. *Arch Dis Childh* 1976; **51**:170-179.
- 20 "Tables for Statisticians" transcrita del libro de Guglielmo Tagliacarne, "Técnica y Práctica de las Investigaciones de Mercado", Editorial Ariel, 1960.
- 21 Elveback LR, Taylor WF. Statistical methods of estimating percentiles. *Ann NY Acad Sci* 1969; **161**:538-548.
- 22 Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Childh* 1969; **44**:291-303.
- 23 Solberg HE. International Federation of Clinical Chemistry, Expert Panel on Theory of reference values, and International Committee for standardization in Haematology, Standing Committee on reference values. Approved recommendation (1986) on the theory of reference values. Part 1. The concept of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; **25**:337-342.
- 24 Dybkaer R, Solberg HE. International Federation of Clinical Chemistry, Expert Panel on Theory of reference values, and International Committee for standardization in Haematology, Standing Committee on reference values. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 6. Presentation of observed values related to reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; **25**:657-662.
- 25 PetitClerc C, Solberg HE. International Federation of Clinical Chemistry, Expert Panel on Theory of reference values. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 2. Selection of individuals for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; **25**:639-644.
- 26 Solberg HE, PetitClerc C. International Federation of Clinical Chemistry, Expert Panel on Theory of reference values. Approved recommendation (1988) on the theory of reference values. Part 3. Preparation of individuals and collection of specimens for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988; **26**:593-598.
- 27 Solberg HE, Stamm D. International Federation of Clinical Chemistry, Expert Panel on Theory of reference values. IFCC recommendation: the theory of reference values. Part 4. Control of analytical variation in the production, transfer and application of reference values. *J Aut Chem* 1991; **13**:231-234.
- 28 Solberg HE. International Federation of Clinical Chemistry, Expert Panel on Theory of reference values, and International Committee for standardization in Haematology, Standing Committee on reference values. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; **25**:645-656.
- 29 Harris EK, Boyd JC. On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges. *Clin Chem* 1990; **36**:265-270.
- 30 Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. *Clin Chem* 1971; **17**:275-284.
- 31 Herruzo AJ, Mozas J, Alarcón JL, et al. Sex differences in serum hormone levels in umbilical vein blood. *Int J Gynecol Obstet* 1993; **41**:37-41.
- 32 Ropelato MG, Escobar ME, Gottlieb S, Bergadá C. Gonadotropin secretion in prepubertal normal and agonadal children evaluated by ultrasensitive time-resolved immunofluorometric assays. *Horm Res* 1997; **48**:164-172.
- 33 Boon DA, Keenan RE, Slaunwhite WR, Aceto T. Conjugated and unconjugated plasma androgens in normal children. *Pediatr Res* 1972; **6**:11-18.
- 34 Lee PA, Midgley AR Jr, Jaffe RB. Regulation of human gonadotropins. VI. Serum follicle stimulating and luteinizing hormone determinations in children. *J Clin Endocrinol Metab* 1970; **31**:248-253.
- 35 Garibaldi LR, Picco P, Magier S, Chevli R, Aceto T. Serum luteinizing hormone concentrations, as measured by a sensitive immunoradiometric assay, in children with normal, precocious or delayed pubertal development. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; **72**:888-898.
- 36 Kasa-Vubu JZ, Padmanabhan V, Kletter GB, et al. Serum bioactive luteinizing and follicle-stimulating hormone concentrations in girls increase during puberty. *Pediatr Res* 1993; **34**:829-833.
- 37 Frasier SD, Gafford F, Horton R. Plasma androgens in childhood and adolescence. *J Clin Endocrinol Metab* 1969; **29**:1404-1408.
- 38 Korth-Schutz S, Levine LS, New MI. Serum androgens in normal prepubertal and pubertal children and in children with precocious adrenarche. *J Clin Endocrinol Metab* 1976; **42**:117-123.
- 39 Soldin SJ, editor. Pediatric reference ranges. 2nd Edition. Washington: AACC Press; 1997.
- 40 Soldin SJ, Hicks JM, Bailey J, Beatey J, Watson P. Pediatric reference ranges for sex hormone binding globulin. *Clin Chem* 1997; **43**:S200 (abstract).
- 41 Chaussain JL, Brijawi A, Georges P, Roger M, Donnadiou M, Job JC.