



Universidad Nacional Autónoma De México
Posgrado de Maestría en Ciencias Médicas
Facultad de Medicina

“Factores cardiometabólicos en niñas con pubertad precoz central que reciben análogos de GnRH (LEUPROLIDE) y su relación con los niveles de leptina”

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS

Presenta
JESSIE NALLELY ZURITA CRUZ

TUTOR:
DR. MIGUEL ANGEL VILLASIS REEVER
Programa de Maestría en Ciencias



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

México, D.F.

Agosto 2013



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI**

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

“Factores cardiometabólicos en niñas con pubertad precoz central que reciben análogos de GnRH (LEUPROLIDE) y su relación con los niveles de leptina”

MODALIDAD DE GRADUACIÓN TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRIA EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA
DRA. JESSIE NALLELY ZURITA CRUZ

TUTOR:
DR. MIGUEL ANGEL VILLASIS KEEVER
Maestría en Ciencias Médicas

JUNIO 2014

I. RESUMEN

Marco teórico: En los últimos años se ha observado en pacientes con pubertad precoz central (PPC) un aumento en el tejido adiposo a comparación de la población en general, así como elevación de los niveles séricos de leptina, insulina y lípidos en sangre. Aparentemente hay mayor riesgo de incremento en el peso sin determinar con precisión si éste se acompaña de otros marcadores que aumenten el riesgo de síndrome metabólico.

Objetivos: Determinar la asociación de la concentración sérica de leptina, en el momento del diagnóstico de PPC, entre las pacientes que desarrollan uno o más factores cardiometabólicos y las pacientes que no los desarrollan al finalizar el primer año de la supresión con análogos de GnRH. Comparar la concentración sérica de leptina al momento del diagnóstico de la PPC y a los 6 y 12 meses posterior a la supresión con análogos de GnRH, entre las pacientes que desarrollan y las que no desarrollan factores cardiometabólicos. Describir el comportamiento del szIMC, perímetro de cintura, porcentaje de grasa corporal, presión arterial sistémica, niveles séricos de glucosa, c-LDL, c-HDL, triglicéridos, insulina y puntaje de HOMA en niñas con PPC en el primer año de vigilancia posterior al inicio de tratamiento con análogos de GnRH.

Metodología Se incluyeron niñas con diagnóstico de PPC idiopática en estadio de Tanner 3 y 2. Se excluyeron a pacientes con peso bajo al nacer y que recibían hormona de crecimiento o esteroides. Se eliminaron en quienes no se logró la inhibición de la pubertad y tuvieron estudios incompletos. **Descripción general del estudio:** Se identificaron las pacientes y se tomaron niveles séricos de glucosa, c-HDL, c-LDL, triglicéridos, leptina, PCR e insulina, somatometría completa y medición la presión arterial, el porcentaje de grasa y un cuestionario para evaluar la actividad física. Este procedimiento se realizó durante el seguimiento habitual de la PPC, a los 6 y 12 meses posteriores. Durante las citas subsecuentes se documentó la dosis de leuprolide que recibían y la supresión de la pubertad.

Análisis estadístico: Se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 17.0 Análisis descriptivo: medidas de tendencia central y de dispersión. Análisis inferencial. Se aplicó U de Mann Whitney para determinar la diferencia de la concentración sérica de leptina al diagnóstico entre las pacientes con desarrollo de uno o más factores cardiometabólicos y las que no los desarrollaron. Se identificó la percentil 60 de la concentración sérica de leptina y se dividió en 2 grupos (menor de PC65 y mayor a PC66); se aplicó χ^2 para comparar la proporción de pacientes con desarrollo de factores y las concentraciones sérica de leptina de acuerdo al percentil 60 o más. Se realizó correlación de Spearman entre los niveles de leptina y el valor cuantitativo de cada uno de los factores cardiometabólicos. Para determinar la diferencia en el comportamiento de los niveles de leptina sérica y el desarrollo de factores cardiometabólicos se aplicó análisis de varianza. Se realizó análisis multivariado para el control de las variables de confusión.

Resultados: Se incluyeron 22 niñas. El perímetro de cintura (60.6 a 65cm) y el porcentaje de grasa corporal (16.1 a 27.4%) aumentaron en el primer año de seguimiento. El 50% (n=11) de las pacientes desarrollaron durante el primer año de vigilancia al menos un factor cardiometabólico. Los niveles de leptina al diagnóstico presentaron tendencia a ser mayores en las pacientes que desarrollaron factores en comparación con las que no lo hicieron (med 8.85 vs 10.09 ng/ml). Se observó una correlación entre los niveles de leptina al diagnóstico con el puntaje de HOMA y en el regresión lineal se identificó que el estadio de Tanner 3 se relaciona con un mayor puntaje de HOMA.

Conclusiones: La leptina sérica al diagnóstico parece relacionarse con el incremento de factores cardiometabólicos después del primer año de seguimiento posterior al inicio de tratamiento con los análogos de GnRH. De todos los factores cardiometabólicos estudiados, el valor del índice de HOMA a los 12 meses de seguimiento mostró una asociación con la leptina sérica al diagnóstico.

II. ANTECEDENTES

La pubertad precoz central (PPC) se define como el desarrollo de las características sexuales antes de los 9 años de edad en los varones y 8 años en las niñas debido a la activación del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal.^{1,2,3} a pesar de que ha habido cambios seculares en el inicio de la pubertad con el paso de los años, la definición no se ha modificado⁴. La PPC es una patología rara, que se presenta aproximadamente en 1:5,000 a 1:10,000 niños^{5,6} y de acuerdo a un estudio epidemiológico realizado en España se reporta una incidencia anual de 0,13-2,17 nuevos casos por 100.000 niñas⁷; no existen referencias en la población mexicana. De acuerdo con su etiología se divide en orgánica, cuando se asocia con una lesión del sistema nervioso central (SNC), o idiopática cuando en los estudios de imagen (tomografía o resonancia) no se demuestra alguna lesión asociada. Esta última forma es la que ocurre hasta en 90% de los casos en el género femenino.⁸

La historia natural de la PPC sin tratamiento ocasiona que la talla final sea menor a lo esperado debido a la fusión temprana de la placa de crecimiento epifisaria por la exposición de esteroides sexuales, específicamente los estrógenos.⁹ Asimismo la PPC conduce al desarrollo temprano de caracteres sexuales secundarios e inicio de la menstruación a edades menores que lo habitual.

En la actualidad, en todos los pacientes con PPC está indicado utilizar tratamiento siempre y cuando sean detectados en etapas tempranas después del inicio de la enfermedad. La razón por lo que los pacientes deben recibir tratamiento, además de preservar el potencial genético de estatura final, es el mayor riesgo de alteraciones emocionales y problemas de adaptación a los cambios sexuales¹⁰, abuso sexual y embarazo prematuro¹¹. En diversos estudios se ha observado que el tratamiento con análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) suprime la activación

del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, preservando la talla final adulta,^{12,13} por lo que en la actualidad se considera el tratamiento de primera elección.¹⁴

Proceso diagnóstico y terapéutico de la PPC

De acuerdo a la definición clásica de la PPC, la presencia de caracteres secundarios antes de los 8 años de edad en niñas se define como pubertad precoz. El desarrollo de la pubertad en las niñas se presenta con el siguiente orden: telarca, pubarca y finalmente la menarca; entonces, cualquier cambio en el orden se puede considerar anormal y se debe descartar que se trate alguna patología que no involucra la activación del eje hipotálamo hipófisis-gónada, como la pubarca temprana o una variante normal,^{15,16} como la pubertad adelantada o pubertad normal temprana.^{17,18}

La pubarca temprana va muy de la mano con la adrenerca que consiste en la maduración de las glándulas adrenales por la producción de andrógenos (dehidroepiandrosterona y dehidroepiandrosterona sulfatada) provocando el vello puberal y axilar,¹⁹ sin presentar activación del eje hipotálamo-hipófisis-gónada (H-H-G). Se han hecho múltiples estudios donde se ha identificado que las pacientes con pubarca prematura, sin otra patología adyacente y sin que esto se relacione con inicio de pubertad precoz, tienen mayor riesgo de presentar obesidad, síndrome metabólico y sus comorbilidades en etapa adulta, aparentemente asociado con mayor porcentaje de tejido adiposo e hiperandrogenismo^{20,21,22}.

El diagnóstico definitivo de PPC requiere de la documentación de la activación del eje H-H-G, evaluándolo en forma indirecta a través de la exploración física con la presencia y progresión de caracteres sexuales secundarios, aceleración en la velocidad de crecimiento y edad ósea adelantada.²³ La confirmación diagnóstica se realiza al detectar elevación sérica de gonadotropinas, en especial de la hormona luteinizante (LH) ²⁴ ya que tiene una mejor sensibilidad y especificidad para el

diagnóstico. La determinación sérica de LH > 0.6 U/L, medida a través de inmunofluorescencia, es suficiente para determinar la activación del eje.²⁵ Pero, en los casos donde la medición basal de LH no se encuentre elevada pero exista la sospecha clínica,²⁶ entonces es necesario realizar una prueba, y en nuestro medio la opción es la evaluación de LH después de la administración de una dosis única de análogos de GnRH, como el acetato de leuprolide a dosis de 3.75 mg. Con esta prueba el diagnóstico de PPC es positivo cuando se observa una elevación de LH medido por quimioluminiscencia > 5U/L, 2 horas después de la aplicación del medicamento.^{27,28,29}

Por otro lado, una vez que se establece el diagnóstico de PPC, el tratamiento consiste en la administración de análogos de GnRH. Existen varios tipos de análogos, todos los cuales son efectivos; su diferencia estriba en la dosis, intervalo o en la vía de administración. En México se utiliza el leuprolide a dosis de 3.75 mg, 7.5 mg y 11.25 mg, que se aplican cada 1, 2 y 3 meses, respectivamente y la triptorelina a dosis de 3.75 mg cada mes o de 11.25 mg cada tres meses.^{30,31,32,33,34}

Después del inicio del tratamiento se recomienda que a los tres meses se evalúe si ha sido adecuada la supresión del eje hipotálamo-hipófisis-gónada, lo cual consiste en la exploración de los caracteres sexuales y en la determinación de LH sérica basal y posterior a estimulación con análogos de GnRH. Se considera que no existe una adecuada supresión de la pubertad en caso de detectar la progresión de los caracteres sexuales a etapas más tardías de Tanner, pero sobretodo con una determinación de LH > 0.6 U/L en la medición basal, o con un valor > 6.6 U/L 2 horas posteriores a la estimulación con análogos GnRH.³⁵ En los casos que se determina que la supresión es inadecuada, se incrementa la dosis del medicamento. El porcentaje de pacientes que logran una adecuada supresión de la pubertad con

los análogos de GnRH en los primeros 3 meses va desde un 78 hasta un 100%^{36,37,38,39,40}; aquellas que no lo logran, requiere reajuste de dosis a los 3 y 6 meses posteriores del inicio del tratamiento.

Con respecto a la suspensión del tratamiento, se sugiere realizarlo cuando las niñas alcanzan una edad ósea de 12 años y en los varones con una edad ósea de 14 años, ya que este momento se ha alcanzado la estatura máxima.⁴¹ Sin embargo, la suspensión del tratamiento puede diferirse en casos que, a pesar que se haya alcanzado la maduración ósea, se mantenga una velocidad de crecimiento alta. Por el contrario, cuando la velocidad de crecimiento mínima se puede suspender mas tempranamente el tratamiento.

Existen condiciones en las cuales el tratamiento con análogos de GnRH puede traer mayor riesgo que beneficio, como por ejemplo en pacientes que se hace el diagnóstico en forma tardía de la pubertad precoz, con una edad ósea muy avanzada (12 años), en quienes el pronóstico de talla final no mejoraría con el tratamiento sacrificando el depósito de calcio en el hueso. Ante esto se hace énfasis al diagnóstico oportuno, presentando un mejor pronóstico cuando se inicia el tratamiento dentro entre los 6 y 12 meses posterior al inicio de los síntomas de la patología.

Factores de riesgo cardiometabólico y sus co-morbilidades

La prevalencia de obesidad infantil se ha incrementado dramáticamente en los países en desarrollo. Los niños obesos están en mayor riesgo de ser adultos obesos.^{42,43} Las tasas de sobrepeso para niños y adolescentes en los Estados Unidos de Norteamérica es de 16%; en Europa el sobrepeso y la obesidad en niños escolares se reporta en el 31.8%, mientras que en México esta tasa es de alrededor del 26%. La trascendencia de estas cifras estriba en que la obesidad en etapas

pediátricas se asocia con un aumento en el riesgo de complicaciones metabólicas en etapas posteriores de la vida, como resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, diabetes mellitus tipo 2 y enfermedades cardiovasculares.⁴⁴ En particular la resistencia a la insulina ⁴⁵ es la alteración metabólica más comúnmente relacionada con la obesidad, y representa un vínculo muy importante entre ésta y otras alteraciones como la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hígado graso no alcohólico, disfunción endotelial, aterosclerosis, dislipidemias, síndrome de ovario poliquístico, así como el síndrome metabólico.

Con respecto los factores cardiometabólicos existen diferentes criterios para establecer el diagnóstico en la población pediátrica, sin embargo los factores que varios autores consideran de riesgo son ^{46,47,48,49,50}:

1. Obesidad, definida por IMC
2. Obesidad abdominal, definida por perímetro de cintura
3. Hipertensión arterial sistémica
4. Disminución de colesterol HDL
5. Hipertrigliceridemia
6. Intolerancia a carbohidratos
7. Resistencia a la insulina
8. Antecedente familiar de infarto agudo al miocardio prematuro, hipercolesterolemia o DM2

Si se logra identificar factores cardiometabólicos en etapas pediátricas, se podrá estratificar el riesgo, dar el seguimiento, tratamiento y, potencialmente, prevenir las complicaciones en edades adultas⁵¹.

En la actualidad, el concepto de factores cardiometabólicos se ha ampliado e incluye otros elementos, tales como algunas citocinas pro-inflamatorias (como la PCR de

alta sensibilidad, interleucina-1b, interleucina-6 o el factor de necrosis tumoral alfa) por lo que se engloba en el término factores de riesgo cardiometabólico lo cual indica un estado de mayor susceptibilidad para aterogénesis y eventos cardiovasculares.

El IMC se considera un indicador fiable de la adiposidad. Sin embargo, el uso de este índice tiene algunas limitaciones en los niños debido a que la relación entre la masa grasa y sin grasa varía entre las diferentes edades. En este sentido, algunos estudios sugieren que el perímetro de cintura es superior para medir la obesidad relacionada con los factores de riesgo cardiovasculares, ya que en forma indirecta cuantifica la cantidad acumulada de grasa abdominal relacionada tanto a la grasa subcutánea abdominal y la grasa intraabdominal.⁵² Actualmente un mejor método que permite medir en forma no invasiva y a un bajo costo la grasa corporal, es la bioimpedancia.⁵³

En las últimas décadas, el estudio en la etiología del síndrome metabólico se ha ampliado, identificándola como una patología multifactorial, y los factores de riesgo mejor estudiados para su desarrollo es: la carga genética positiva para esta enfermedad,^{54,55,56,57} alimentación desbalanceada, pobre actividad física⁵⁸, peso bajo al nacer,⁵⁹ entre otros. Las conclusiones de los múltiples estudios han arrojado recomendaciones en donde parte del manejo integral en este tipo de pacientes son las modificaciones de los hábitos higiénico-alimenticios, en donde se incluye alimentación balanceada, evitar el sedentarismo y realizar ejercicio.⁶⁰

Leptina y factores de riesgo cardiometabólico

La leptina es una hormona peptídica de 16 kDa codificada por el gen *ob* situado en el cromosoma 7 (7q31.1).⁶¹ Se sintetiza principalmente por el tejido adiposo y secretada al plasma, pero otros tejidos como el estómago, los intestinos y la

placenta también pueden secretarla.⁶² La síntesis de la leptina es regulada por neuropeptidos hipotalámicos involucrados en el metabolismo de la energía mediante la supresión en la ingesta de alimentos y estímulo del gasto energético.^{63,64} Los estudios iniciales de la leptina fueron realizados en modelos animales e identificaron a través de ratón ob/ob que la ausencia en la expresión de leptina condiciona obesidad debido a la ausencia en la inhibición de la saciedad. Sin embargo, en la mayoría de los humanos obesos no se encontró esta relación y, en contraste, el incremento de la concentración circulante de leptina está altamente correlacionado con la masa del tejido adiposo y mayor riesgo de presentar componentes del síndrome metabólico.⁶⁵ La leptina tiene efectos en diferentes sistemas del cuerpo, por ejemplo, en el sistema nervioso central inhibe la ingesta alimentaria, la reducción de la masa del tejido adiposo y aumento de la termogénesis.

Los niveles séricos de leptina difieren de acuerdo con la edad, sexo, grasa corporal y el estadio puberal. La mediana de los niveles séricos de leptina en niñas pre-púberes con peso normal habitualmente se describe de 3.6 ng/mL, mientras que de acuerdo con el estadio puberal los valores se incrementan, así como Tanner 2 son de 4.5 ng/mL, y para el Tanner 5 de 7.8 ng/mL.⁶⁶ Cuando existe obesidad, los valores se elevan en forma importante, pero con variaciones entre estudios; como en lo descrito por Antunes y col. en donde los niveles séricos de leptina en estadio de Tanner 1-2 fueron de 37.0 ± 22.3 ng/mL y para estadios de Tanner 3-4 de 45.2 ± 29.6 ng/mL.⁶⁷ Y en el caso del estudio de Bouvattier y col. en adolescentes de 13 a 19 años de edad en estadios de Tanner de 3 a 5 los niveles de leptina sérica fueron de 36.4 ± 1.7 ng/ml.⁶⁸

En contraste, en los varones hay una disminución de los niveles séricos de leptina al inicio de la pubertad, tendiendo el mismo comportamiento cuando tienen pubertad

precoz; pero cuando hay presencia de obesidad estos niveles se incrementan indirectamente por el aumento en la cantidad de tejido adiposo. Los resultados son controversiales, existen estudios^{69,70,71} demostrando que no hay relación del sobrepeso u obesidad para acelerar el inicio de la pubertad, mientras que en otros si se demostró esa relación^{72,73}.

Con el objetivo de demostrar la asociación positiva de los niveles de leptina con los factores de riesgo cardiometabólicos se estudiaron 251 adolescentes turcos, 100 con IMC normal y 151 con obesidad. En el grupo de peso normal los niveles de leptina (medido por radioinmunoensayo) tuvieron una media de 7.2 ± 4.9 ng/mL y los adolescentes con obesidad y sobrepeso fue de 50.7 ± 12.4 ng/mL.⁷⁴

Estudios realizados en sujetos con antecedente de bajo peso al nacer han demostrado mayores niveles de leptina a comparación de la población en general, ajustado por IMC y sexo; esto debido, entre otros factores, a tener disminución en la depuración renal de leptina.^{75,76,77}

A nivel del sistema nervioso simpático la leptina incrementa la concentración de norepinefrina y epinefrina a través de la vía hipotálamo ventromedial,⁷⁸ estos efectos excitatorios a nivel simpáticos se mantienen condicionando aumento de la presión arterial en pacientes con obesidad y resistencia a la leptina. Debido a que esta observación no se presenta en los modelos animales que tiene alteraciones en el receptor de la leptina y condiciona resistencia a la misma, se sugiere que la resistencia central a la leptina es selectiva.⁷⁹ Otras observaciones realizadas en modelos animales y en humanos han demostrado que la secreción de la leptina se incrementa por endotoxinas y citocinas, las cuales también están incrementadas en pacientes con síndrome metabólico.^{80,81,82}

La elevación sérica persistente de los niveles de leptina, es una condición que se ha observado en humanos obesos, y se acompaña por una disrupción de la actividad usual de esta hormona, posiblemente a diferentes niveles en el transporte y/o en la cascada de señalización.^{83,84} En estos casos se considera que la elevación es por resistencia a la leptina en el SNC, la cual puede ser selectiva, y condiciona activación simpática periférica de la presión arterial.⁸⁵ Asimismo, la leptina se conoce que puede afectar diferentes procesos sistémicos, como la reproducción y las funciones cardiovasculares.^{86,87,88} La resistencia a la leptina conlleva a la reducción de la inhibición de la proteína 1c unida a los elementos reguladores de los esteroides, la cual regula el depósito de lípidos en los tejidos. La sobreexpresión de esta proteína conduce a la acumulación anormal de lípidos en órganos no adiposos, incluyendo el hígado, músculo cardíaco y esquelético.⁸⁹ Esta condición se puede considerar como una autoprotección de los tejidos para reducir la captación celular de glucosa y disminuir las lipoproteínas derivadas. Por otro lado, resistencia a la leptina también resulta en la oxidación reducida de ácidos grasos, que a su vez promueve resistencia a la insulina. La combinación de estos mecanismos patogénicos implicados en la obesidad y el síndrome metabólico contribuyen significativamente a la aparición de enfermedad cardiovascular.⁹⁰

Leptina e inicio de la pubertad

Hasta el momento, no se ha identificado un detonante único para el inicio de la pubertad normal o patológica y el descubrimiento de kisspeptina y su receptor ha llevado a la mejor comprensión en la regulación de la pubertad. Aunque se sabe que la kisspeptina promueve la secreción de GnRH, los factores que controlan la producción de kisspeptina continúan en estudio⁹¹. La leptina, producida en el tejido

adiposo y directamente relacionada con la energía almacenada, actúa a través de su receptor para estimular secreción kisspeptina en el núcleo arqueado⁹².

MARCO TEÓRICO

Es posible de forma indirecta, niveles de leptina participan en el inicio de la pubertad lo que justificaría medir esta hormona en pacientes con pubertades patológicas como la PPC. Existen pocos estudios sobre PPC y niveles de leptina donde se ha observado que sus niveles son discretamente superiores a los valores normales.⁶⁶ Palmert y cols.⁹³ estudiaron 50 niñas con PPC en estadio de Tanner II y III y encontraron una mediana de cifras séricas de 10 ± 1.1 ng/ml; por su parte, Verrotti y cols.⁹⁴ encontraron valores similares en 20 pacientes del sexo femenino también en Tanner II y III (9 ± 0.8 ng/ml) y un estudio más reciente realizado por Su y cols.⁹⁵ en 249 niñas con PPC sin especificar el estadio de Tanner reportan niveles de leptina sérica de 7.6 ± 5.7 ng/ml (medido por radioinmunoensayo), comparativamente más elevados que el grupo control (6.2 ± 5.4 ng/ml). En estos estudios los niveles de leptina se midieron en ayuno por la mañana, pero no informan si existen diferencias de acuerdo al estadio puberal o el estado de nutrición. Además, vale la pena mencionar que hasta la fecha no se han realizado estudios donde comparen los niveles de leptina y la presencia de síndrome metabólico o alguno de sus componentes, en pacientes con PPC.⁹⁶

Concentración de leptina sérica en pacientes con PPC				
Autor	Número de pacientes	Edad	IMC	Concentración de leptina (ng/ml)
Palmert M ⁹³ 1999	50	6.2 ± 0.3	-	10 ± 1.1
Verrotti ⁹⁴ 2003	20	4.2 a 7.1	-	9 ± 0.8
Su P ⁹⁵ 2012	249 (PPC)	8.5 ± 1.4	18.7 ± 2.9	7.6 ± 5.7
	(normales)	8.3 ± 1.4	17.6 ± 3.5	6.2 ± 5.4
Zurita J	22	7 (2-9)	-	9.88 (2.14-11.75)

Pubertad precoz central y factores cardiometabólicos

La presencia de menarca a edad temprana se ha asociado con incremento en la causa de cáncer y mayor mortalidad cardiovascular, así como incremento en el riesgo de obesidad, hipertensión arterial sistémica y síndrome metabólico^{97,98,99} lo que puede tener consecuencias en la vida adulta.

Glueck y col.¹⁰⁰ identificaron que en las pacientes con pubertad precoz, es mayor la probabilidad de tener un familiar de primera línea con síndrome de ovarios poliquísticos y que las pacientes tengan mayor riesgo de obesidad y disminución a la sensibilidad a la insulina. En otros estudios en pacientes con PPC se ha observado que las niñas después del diagnóstico incrementan de peso.^{101,102} Palmert y cols.,¹⁰³ observaron que la frecuencia de sobrepeso y obesidad se incrementó en alrededor del 30% en una cohorte de 96 niñas anglosajonas con PPC después de 3 años de seguimiento donde recibieron deslorelina como tratamiento. De la misma forma, Boot y col.¹⁰⁴ describieron en una cohorte de 34 pacientes un incremento en el valor Z (SZ) del índice de masa corporal (IMC) de 0.96 a 1.38 a un seguimiento a 2 años, siendo el mayor incremento del IMC durante los primeros 12 meses de seguimiento. Recientemente, en una cohorte retrospectiva de niñas mexicanas con PPC se observó aumento de la frecuencia de obesidad después de 12 meses de haber realizado el diagnóstico, con un 30% de pacientes con sobrepeso y se incrementó la obesidad a un 40%.¹⁰⁵ En contraste, existen otros estudios donde no se ha encontrado relación con la incidencia de obesidad o incremento ponderal. En una cohorte de 115 pacientes, el IMC no se modificó después de un seguimiento de más de 2 años.¹⁰⁶ Mientras que una población italiana de 101 niñas con PPC se documentó disminución en el SZ del IMC en pacientes de 3 a 8 años de edad

durante 24 meses de seguimiento.¹⁰⁷ En el año 2013, Giabicani y col.¹⁰⁸ reportaron una cohorte retrospectiva de 493 pacientes con PPC, que durante el seguimiento de la supresión con los análogos de GnRH, el peso se mantuvo estable.

En las publicaciones de cohortes prospectivas y retrospectivas de pacientes con pubertad precoz se observa que hay aumento de tejido adiposo a comparación de la población en general. Existen estudios donde se han evaluado otros factores de riesgo cardiometabólico. Sørensen y cols.¹⁰⁹ describen el seguimiento de 15 pacientes danesas con PPC durante 12 meses, en donde se observó incremento del porcentaje de grasa corporal (basal 23.8% vs 29.2%), de los niveles de insulina sérica (58pmol/L vs 85pmol/L), triglicéridos (0.79mmol/L vs 0.88 mmol/L) pero sin variaciones en colesterol LDL y HDL. En otro estudio realizado por Emre y cols.¹¹⁰ en 20 pacientes con PPC con seguimiento a 12 meses, observaron que el 45% (9 pacientes) aumentaron el IMC. Este grupo mostró incremento significativo de los niveles séricos de insulina (29.22 ± 7.08 vs 6.7 ± 3.1 mmol/L), glucosa (97.4 ± 12.20 mg/dl vs 83.7 ± 13.3 mg/dL) y HOMA (4.85 ± 0.95 vs 1.37 ± 0.76) comparado con el grupo que no incrementó su IMC.

Factores cardiometabólicos identificados en pacientes con PPC

Autor	Número de sujetos	Edad (años)	sz IMC inicial	Tiempo de seguimiento (años)	Factores cardiometabólicos
Palmert M ¹⁰³ 1999	96	6.2 ± 0.2	1.1±0.1	3	↑ Sobrepeso y obesidad 30%
Boot A ¹⁰⁴ 1998	34	8.7 (2.8-10.8)	0.96±1.12	2	↑ szIMC a 1.38
Arrigo T ¹⁰⁷ 2004	101	7.5±0.9	1.39±1.07	1	↓ szIMC a 0.11±0.52
Lazar L ¹⁰⁶ 2007	22	6.4±1.2	0.5±0.7	4	Sin cambio del szIMC
	38	7.5±0.6	0.6±0.8		
	55	8.9±0.5	0.5±0.6		
Pasquino A ¹⁰¹ 2008	87	6.5 ± 1.5	0.39 ± 0.8	9 ± 2	Sin cambio del szIMC
Sørensen K ¹⁰⁹ 2010	15	8.6 (7.5-9.9)	18.1 (15.5-22.3)*	1	↑ IMC a 18.6 ↑ % grasa corporal (23.8% a 29.2%) ↑ insulina (8.35 a 12.23μUI/L) ↑ triglicéridos (69.9 a 77.9mg/dl) c-HDL, c-LDL sin cambios
Diaz I ¹⁰⁵ 2011	121	6.8±1.32	0.87	1	↑ szIMC a 1.32
Emre M ¹¹⁰ 2011	20	7.55±1.02	16.6±1.65*	1	2 grupos, con y sin ↑ IMC ↑ insulina (4.2 vs 0.96μUI/L) ↑ triglicéridos (92.7 a 98.4mg/dl) c-HDL, c-LDL sin cambios
Giabicani E ¹⁰⁸ 2013	493	7.55±1.44	1.28±1.5	1	Sin cambio del szIMC
Zurita J, 2014	22	7 (2-9)	1.14 (-0.59, 2.13)	1	50% con aumento de por lo menos un factor cardiometabolico

*IMC

De acuerdo a este marco teórico, podemos establecer que en las pacientes con PPC se ha observado elevación de las concentraciones séricas de leptina, insulina y lípidos en sangre; sin embargo, no hay estudios donde se haya establecido la relación de los factores cardiometabólicos en pacientes con PPC y la concentración sérica de leptina.

III. JUSTIFICACIÓN

La leptina es una hormona que se ha identificado como una de las detonantes del inicio de la pubertad, y en pacientes con obesidad, sus niveles son proporcionalmente directos con la cantidad de grasa corporal y la presencia de factores cardiometabólicos asociados. En este contexto en diferentes estudios se ha observado que las pacientes con PPC tienen niveles más altos de leptina comparados con sus congéneres de acuerdo a edad o estadio de Tanner, así mismo, en esta población se ha identificado, aparentemente una predisposición mayor al desarrollo de factores cardiometabólicos.

De acuerdo a los resultados de los estudios en niñas con PPC el incremento de peso parece ocurrir particularmente durante el primer año, en comparación a los años subsecuentes.

En la presente investigación, se exploró el comportamiento de los niveles de leptina de pacientes con PPC durante los primeros 12 meses de su diagnóstico, y se evaluó la asociación de la concentración sérica leptina al diagnóstico de la PPC y el presentar factores cardiometabólicos durante su seguimiento a 12 meses.

Los resultados de este estudio, ayudaran a orientar la participación temporal de la leptina como un marcador indirecto temprano en el desarrollo de factores cardiometabólicos en pacientes con PPC y cuál es la frecuencia del desarrollo de factores cardiometabólicos durante su seguimiento en el primer año de diagnóstico.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La leptina es una hormona producida por el tejido adiposo, la cual se ha visto relacionado, como uno de los factores detonante del inicio de pubertad, así como con la cantidad de tejido adiposo y en forma indirecta, con el desarrollo de factores cardiometabólicos y el síndrome metabólico. En la población con niñas con PPC, la leptina se ha identificado en concentraciones más altas comparado con niñas sin otra patología. Por otro lado, existe controversia sobre la probabilidad de desarrollar obesidad o dislipidemia en esta población; sin embargo, en los estudios realizados por Emre y Sørensen, en donde son estudios prospectivos que no analizan todos los factores cardiometabólicos.

Hasta el momento no se ha estudiado si existe una relación entre los niveles séricos de leptina en pacientes con PPC y el desarrollo de factores cardiometabólicos durante su seguimiento en el primer año posterior al inicio de tratamiento. Por lo anterior, surgieron las siguientes preguntas de investigación:

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1. ¿Existe asociación de la concentración sérica de leptina, en el momento del diagnóstico de PPC, entre las pacientes que desarrollan uno o más factores cardiometabólicos y las pacientes que no los desarrollan al finalizar el primer año de la supresión con análogos de GnRH?
2. ¿Existe diferencia en el comportamiento de la concentración sérica de leptina, al diagnóstico y a los 6 y 12 meses posterior a la supresión con los análogos de GnRH entre las pacientes que desarrollan factores cardiometabólicos y las que no los desarrollan durante el primer año de seguimiento posterior a la supresión de la pubertad con análogos de GnRH?
3. ¿Cuál es el comportamiento del szIMC, perímetro de cintura, porcentaje de grasa corporal, presión arterial sistémica, niveles séricos de glucosa, c-LDL, c-HDL, triglicéridos, insulina y puntaje de HOMA en niñas con PPC en el primer año de vigilancia posterior al inicio de tratamiento con análogos de GnRH?

V. HIPÓTESIS

1. La concentración sérica de leptina, en el momento del diagnóstico de PPC, serán 3 veces mayor entre las pacientes que desarrollan uno o más factores cardiometabólicos y las pacientes que no los desarrollan al finalizar el primer año de la supresión con análogos de GnRH
2. Al diagnóstico de PPC, la concentración sérica de leptina será mayor en las pacientes que desarrollan factores cardiometabólicos en comparación a las que no los desarrollan al año de seguimiento. Mientras que a los 6 y 12 meses, la concentración de leptina será similar entre los grupos.
3. En niñas con PPC el szIMC, perímetro de cintura, porcentaje de grasa corporal, presión arterial sistémica, niveles séricos de glucosa, c-LDL, triglicéridos, insulina y puntaje de HOMA incrementará y c-HDL disminuirá en el primer año de vigilancia posterior al inicio de tratamiento con análogos de GnRH

VI. OBJETIVOS

1. Determinar la asociación de la concentración sérica de leptina, en el momento del diagnóstico de PPC, entre las pacientes que desarrollan uno o más factores cardiometabólicos y las pacientes que no los desarrollan al finalizar el primer año de la supresión con análogos de GnRH
2. Comparar la concentración sérica de leptina al momento del diagnóstico de la PPC y a los 6 y 12 meses posterior a la supresión con análogos de GnRH, entre las pacientes que desarrollan y las que no desarrollan factores cardiometabólicos
3. Describir el comportamiento del szIMC, perímetro de cintura, porcentaje de grasa corporal, presión arterial sistémica, niveles séricos de glucosa, c-LDL, c-HDL, triglicéridos, insulina y puntaje de HOMA en niñas con PPC en el primer año de vigilancia posterior al inicio de tratamiento con análogos de GnRH

VII. PACIENTES, MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar donde se realizó el estudio: Consulta externa del servicio de Endocrinología, en la UMAE Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Diseño estudio del estudio: Observacional, longitudinal, prospectivo y comparativo. Estudio de Cohorte

Población de estudio: Pacientes femeninas con diagnóstico de PPC que asisten a la consulta externa de Endocrinología de la UMAE Hospital de Pediatría, CMN XXI y que se inicia tratamiento con análogos de GnRH (Leuprolide).

Criterios de selección

Criterios de inclusión

1. Pacientes de sexo femenino.
2. Con diagnóstico de PPC idiopática sin tratamiento.
3. Pacientes con estadio de Tanner 2 ó 3.
4. Que aceptaron participar en el estudio.

Criterios de exclusión

1. Antecedente de peso bajo al nacer
2. Pacientes que recibieron hormona de crecimiento o esteroides.

Criterios de eliminación

1. La falta de realización de estudios complementarios, de acuerdo a lo planeado en el protocolo. Se espera que los procedimientos planeados se realicen hasta 30 días después de la cita programada, en caso de no realizarse es este intervalo de tiempo se considerará como perdida.
2. Que no desearon continuar en el estudio durante el seguimiento.

3. Pacientes en quienes no se logró la supresión de la pubertad (Progresión del Tanner y/o demostración bioquímica de actividad del eje hipotálamo hipófisis gónada) en los primeros 6 meses de seguimiento, a pesar de realizar reajuste de dosis del análogos de GnRH a los 3 meses de seguimiento por su médico tratante. (Anexo 1)

Tamaño de muestra

HIPOTESIS 1:

Se realizó un cálculo de tamaño de muestra considerando la diferencia de los promedios en los niveles de leptina sérica con un α de 0.05 ($Z_\alpha = 1.96$) y una β de 0.80 ($Z_{1-\beta}=0.84$); se consideró un promedio de leptina sérica para el grupo de pacientes que no desarrollen factores cardiometabólicos de 9 ± 0.8 ng/ml⁹⁴ y los que si desarrollen de 37.0 ± 22.3 ng/ml⁶⁶:

$$\frac{(Z_\alpha + Z_{1-\beta})^2 (\sigma_1^2 + \sigma_2^2)}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

Se calcula un tamaño de muestra de 3 pacientes por cada grupo (con y sin desarrollo de factores cardiometabólicos).

Se considera que se necesitan reclutar un total de 30 pacientes, considerando que solo un 40%¹¹⁰ (12 pacientes) presentaran uno o más factores cardiometabólicos incidentes (*obesidad, hipertrigliceridemia, disminución de HDLc, HAS, intolerancia a carbohidratos, resistencia a la insulina, elevación de PCR, aumento de grasa corporal total*). Y considerando pérdidas del 20% se aumenta a 36 sujetos.

HIPOTESIS 2:

Hasta el momento no hay estudios en donde se analice el comportamiento de los niveles de leptina relacionados con los factores cardiometabólicos en pacientes con PPC durante los primeros 12 meses posterior a la supresión de la pubertad con análogos de GnRH. Ante esto no se calcula tamaño de muestra para esta hipótesis, ya que se realizara un estudio descriptivo y se utilizará a las pacientes que se incluyan para la primera hipótesis.

DEFINICIÓN DE VARIABLES

Variable dependiente:

FACTORES CARDIOMETABOLICOS:

Definición conceptual: Un conjunto de factores de riesgo metabólico para enfermedades cardiovasculares y diabetes mellitus tipo 2.

Definición Operacional: el desarrollo de al menos uno de los siguientes factores a los 12 meses de seguimiento:

I. OBESIDAD

Definición conceptual: peso corporal por encima del peso aceptable o deseable, por lo general debido a la acumulación de exceso de grasas en el cuerpo.¹¹¹

Definición operacional:

- a) Índice de masa corporal Será el resultado de dividir el peso en kilogramos sobre la talla en metros elevada al cuadrado y compararlo según la centila de las tablas de normalidad de CDC mayor de la centila 95%^{48,112}

Escala de medición: Cualitativa dicotómica

Unidad de medición: Presente/Ausente

OBESIDAD ABDOMINAL

Definición operacional:

- a) Obesidad definida por Perímetro de cintura mayor a percentil 75% para la edad a través de las tablas de perímetro de cintura del Dr. Fernandez y colaboradores (Anexo 2)^{113,114} (Anexo 7)

Escala de medición: Cualitativa dicotómica

Unidad de medición: Presente/Ausente

II. HIPERTENSIÓN ARTERIAL SISTEMICA

Definición conceptual: Elevación patológica en forma persistente de la fuerza hidrostática de la sangre sobre las paredes arteriales, que resulta de la función de bombeo del corazón, volumen sanguíneo, resistencia de las arterias al flujo, y diámetro del lecho arterial¹¹⁵.

Definición operacional: Presión arterial sistémica percentil mayor a 90 para peso, talla y genero^{47,116} (Anexo 3)(Anexo 7)

Escala de medición: Cualitativa dicotómica

Unidad de medición: Presente/Ausente

III. GLUCOSA EN AYUNO ALTERADA

Definición conceptual: Elevación patológica de la concentración plasmática de glucosa cuando el sujeto se encuentra con un ayuno al menos de 12h¹¹⁷

Definición operacional: De acuerdo a Ferranti⁴⁷ y col. la glucemia central mayor de 110mg/dl (muestra sérica tomada por venopunción con un ayuno de 12 horas analizado por método colorimétrico a través del equipo automatizado para química clínica, modelo IN-REACT, SPIM120)

Escala de medición: Cualitativa dicotómica

Unidad de medición: Presente/Ausente

IV. HIPOALFALIPOPROTEINEMIA (DISMINUCIÓN DE COLESTEROL HDL)

Definición conceptual: Disminución patológica de la concentración plasmática de alfalipoproteínas [colesterol de la lipoproteína alta densidad (HDLc)]¹¹⁸

Definición operacional: De acuerdo a Ferranti y col⁴⁷ el Colesterol HDL menor de 50mg/dl (muestra sérica tomada por venopunción con un ayuno de 12 horas analizado por método colorimétrico a través del equipo automatizado para química clínica, modelo IN-REACT, SPIM120)

Escala de medición: Cualitativa dicotómica

Unidad de medición: Presente/Ausente y mg/dl

V. HIPERTRIGLICERIDEMIA

Definición conceptual: Elevación patológica de la concentración plasmática los triglicéridos (tres ácidos grasos unidos a un glicerol)¹¹⁹

Definición operacional: De acuerdo a Cruz y col⁴⁸. cifras de triglicéridos > 100mg/dl o > percentil 90 de acuerdo a la edad¹²⁰ (muestra sérica tomada por venopunción con un ayuno de 12 horas analizado por método colorimétrico a través del equipo automatizado para química clínica, modelo IN-REACT, SPIM120) (anexo 4)

Escala de medición: Cualitativa dicotómica

Unidad de medición: Presente/Ausente

VI. RESISTENCIA A LA INSULINA

Definición conceptual: Disminución de la eficacia de la insulina para bajar los niveles de azúcar en la sangre.¹²¹

Definición operacional: Índice de resistencia a la insulina (medido por quimioluminiscencia con equipo automatizado para química clínica, modelo IN-REACT, SPIM120) , mediante el modelo matemático HOMA

$$\frac{\text{insulina} \left(\frac{\mu\text{U}}{\text{ml}} \right) \times \text{glucosa} \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right)}{22.5}$$

Y se considera resistencia cuando el resultado de HOMA es mayor de 3.4¹²²

Escala de medición: Cualitativa dicotómica

Categoría: Ausente/presente

IMC

Definición conceptual: el resultado de dividir el peso en kilogramos sobre la talla en metros elevada al cuadrado.

Definición operacional: el resultado de dividir el peso en kilogramos sobre la talla en metros elevada al cuadrado y calcular el sz según las tablas de normalidad de CDC.⁴⁸

Escala de medición: cuantitativa continua

Unidad de medición: puntaje szIMC

PERIMETRO DE CINTURA

Definición operacional: circunferencia del cuerpo tomada entre la protuberancia de la cresta iliaca y de la ultima costilla en la línea media axilar. (Anexo 7)

Escala de medición: Cuantitativa continua

Unidad de medición: cm

TENSIÓN ARTERIAL SISTEMICA

Definición conceptual: Medición de la fuerza hidrostática de la sangre sobre las paredes arteriales, que resulta de la función de bombeo del corazón, volumen sanguíneo, resistencia de las arterias al flujo, y diámetro del lecho arterial¹²³.

Definición operacional: Presión arterial sistémica medida y percentilada de acuerdo a peso, talla y género⁴⁷ (Anexo 3)(Anexo 7)

Escala de medición: cuantitativa continua

Unidad de medición: mmHg y centilas

GLUCEMIA CENTRAL EN AYUNO

Definición conceptual: concentración plasmática de glucosa cuando el sujeto se encuentra con un ayuno al menos de 12h¹²⁴

Definición operacional: glucemia central tomada por venopunción con un ayuno de 12 horas analizado por método colorimétrico a través del equipo automatizado para química clínica, modelo IN-REACT, SPIM120

Escala de medición: cuantitativa continua

Unidad de medición: mg/dl

COLESTEROL HDL

Definición conceptual: concentración plasmática de alfalipoproteínas [colesterol de la lipoproteína alta densidad (HDLc)]

Definición operacional: Colesterol HDL tomada por venopunción con un ayuno de 12 horas analizado por método colorimétrico a través del equipo automatizado para química clínica, modelo IN-REACT, SPIM120

Escala de medición: cuantitativa continua

Unidad de medición: mg/dl

TRIGLICERIDOS

Definición conceptual: concentración plasmática de triglicéridos (tres ácidos grasos unidos a un glicerol)

Definición operacional: concentración plasmática de triglicéridos tomada por venopunción con un ayuno de 12 horas analizado por método colorimétrico a través del equipo automatizado para química clínica, modelo IN-REACT, SPIM120

Escala de medición: cuantitativa continua

Unidad de medición: mg/dl

HOMA

Definición conceptual: modelo matemático para medir la disminución de la eficacia de la insulina para bajar los niveles de azúcar en la sangre.

Definición operacional: Índice de resistencia a la insulina (medido por quimioluminiscencia con equipo automatizado para química clínica, modelo IN-REACT, SPIM120) , calculado con:

$$\frac{\text{insulina} \left(\frac{\mu U}{ml} \right) \times \text{glucosa} \left(\frac{mg}{ml} \right)}{22.5}$$

Escala de medición: cuantitativa continua

Categoría: puntaje del índice

COLESTEROL LDL (LDLc)

Definición conceptual: concentración plasmática de colesterol de la lipoproteína baja densidad (LDLc)]

Definición operacional: concentración plasmática de Colesterol LDL (muestra sérica tomada por venopunción con un ayuno de 12 horas calculado a través de la fórmula de Friedewald)

Escala de medición: Cuantitativa continua

Unidad de medición: mg/dl

Variable independiente

LEPTINA SÉRICA

Definición conceptual: Es una hormona peptídica 16-kDa, secretada por los adipocitos blancos. La leptina actúa como una señal de retroalimentación a partir de células de grasa para el sistema nervioso central en la regulación de la ingesta de alimentos, el balance de energía, y el almacenamiento de grasa¹²⁵

Definición operacional: Nivel sérico de leptina tomado a la paciente con 12 horas de ayuno, entre 7:00 y 8:00 horas a través de venopunción medido por Inmunoensayo enzimático de diagnóstico in-vitro para la determinación cuantitativa de Leptina en suero y plasma humanos (Leptin ELISA [DY398] de marca comercial RnDSystems) (Anexo 11)

Escala de medición: cuantitativa continua y cualitativa de acuerdo a concentraciones mayores a la percentil 60 de la población estudiada

Unidad de medición: ng/ml ausente/presente

Variables de confusión

DESARROLLO PUBERAL BASAL:

Definición conceptual: Cambios fisiológicos y anatómicos que se presentan secundario al desarrollo del sistema hipotalámico-hipofisario-gonadal y alcanza su madurez. La aparición de eventos endocrinos sincronizados en la pubertad conducir a la capacidad de reproducción (fertilidad), el desarrollo de características sexuales secundarias, y otros cambios observados en el desarrollo del adolescente.

Definición operacional: Grado de desarrollo puberal de acuerdo a la escala de Tanner¹²⁶ a través de la exploración física de la paciente cuando se hace el diagnóstico de PPC por el médico tratante del servicio de Endocrinología Pediátrica al diagnóstico de la PPC.

Escala de medición: Cualitativa nominal

Unidad de medición: 2, 3

ANTECEDENTE HEREDOFAMILIAR DE DIABETES MELLITUS TIPO 2

Definición conceptual: El registro de la ascendencia o linaje de diabetes mellitus tipo 2 indicando los distintos miembros de la familia.¹²⁷

Definición operacional: Familiar de primer grado que presente diagnóstico de Diabetes mellitus tipo 2 referido por el tutor de la paciente durante el interrogatorio en la primera valoración que se realizará por los investigadores

Escala de medición: Cualitativa nominal

Unidad de medición: Presente/Ausente

ANTECEDENTE HEREDOFAMILIAR DE HIPERTENSIÓN ARTERIAL SISTÉMICA

Definición conceptual: El registro de la ascendencia o linaje de hipertensión arterial sistémica indicando los distintos miembros de la familia.¹¹⁸

Definición operacional: Familiar de primer grado que presente diagnóstico de Hipertensión Arterial Sistémica tipo 2 referido por el tutor de la paciente durante el interrogatorio en la primera valoración que se realizará por los investigadores
Escala de medición: Cualitativa nominal
Unidad de medición: Presente/Ausente

ANTECEDENTE HEREDOFAMILIAR DE SOBREPESO U OBESIDAD

Definición conceptual: El registro de la ascendencia o linaje de sobrepeso u obesidad indicando los distintos miembros de la familia.¹¹⁸

Definición operacional: Familiar de primer grado que presente diagnóstico de sobrepeso (IMC>25) u obesidad (IMC>30) al calcularlo a través de pesar y medir a dichos familiares y calcular el IMC, lo cual se realizará por los investigadores

Escala de medición: Cualitativa nominal

Unidad de medición: Ausente/Presente

ACTIVIDAD FISICA

Definición conceptual: Se considera actividad física cualquier movimiento corporal producido por los músculos esqueléticos que exija gasto de energía.¹²⁸

Definición operacional: medido a través cuestionario validado para pacientes pediátricos, considerándolo como actividad física adecuada cuando el puntaje es ≥ 5 ¹²⁹ (Anexo 11)

Escala de medición: Cualitativa nominal

Unidad de medición: Adecuada e inadecuada

SZ DEL IMC BASAL

Definición conceptual: Resultado de dividir el peso en kilogramos entre la estatura al cuadrado del paciente y compararlo con las tablas de la CDC.¹³⁰

Definición operacional: Se registrará al momento del ingreso al estudio como el resultado de dividir el peso en kilos entre la estatura al cuadrado del paciente y este valor se comparará con las tablas de la CDC para el sexo y edad del paciente, asignándole el sz correspondiente.

Escala de medición: cuantitativa continua

Unidad de medición: puntaje de sz

Variables descriptoras

EDAD

Definición conceptual: Tiempo que ha vivido una persona¹³¹

Definición operacional: Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la fecha de inicio del seguimiento referida por el tutor de la paciente

Escala de medición: Cuantitativa continua.

Unidad de medición: Años y meses

PROTEÍNA C REACTIVA DE ALTA SENSIBILIDAD (HS-CRP):

Definición conceptual: Proteína no glucosilada producida por los hepatocitos humanos en respuesta a la infección, inflamación, o daño tisular. Está compuesta de cinco subunidad unidas de manera no covalente que forman una estructura pentagonal simétrica con un peso molecular de 105 000¹³²

Definición Operacional: Para propósito del estudio se refiere a la medición de proteína C reactiva en plasma después de un ayuno de 8 a 12 horas por técnica de inmunonefelometría.

Escala de medición: Cuantitativa continua.

Unidad de medición: mg/L

GRASA CORPORAL TOTAL

Definición conceptual: Deposito de tejido adiposo en el cuerpo¹³³

Definición operacional: Cantidad de tejido adiposo total distribuido en el cuerpo, medido a través de bioimpedancia eléctrica con equipo TANITA BC- 568 bascula analizador segmental (Anexo 7)

Escala de medición: Cuantitativa continua

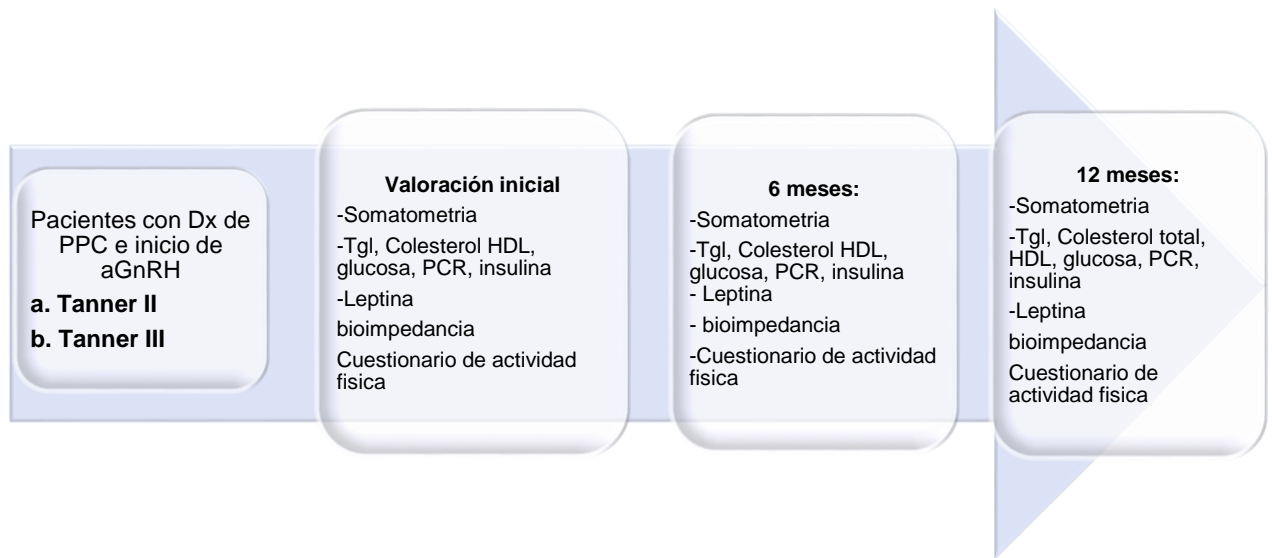
Categoría: Porcentaje

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

1. Se identificaron a las pacientes diagnosticadas con PPC idiopática por los médicos adscritos al servicio de Endocrinología Pediátrica de la UMAE Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI de acuerdo al protocolo establecido para la evaluación y diagnóstico de estas pacientes (Anexo 1).
2. Para las pacientes que cumplieron con los criterios de selección para este estudio, la alumna de maestría contactó a sus padres para explicar el objetivo y procedimiento del proyecto e invitarlos a participar, quienes se les proporcionó la carta de consentimiento informado y asentamiento (Anexo 5 y 6) para que fueran firmados si aceptaban a participar en el estudio.
3. En caso de aceptar, se citó a las pacientes dentro de la primera semana de realizado el diagnóstico de PPC para toma de muestra con un ayuno de 12 horas, la alumna de maestría tomó 3 mililitros de sangre a través de punción venosa para toma de niveles séricos de glucosa, HDLc, LDLc, triglicéridos, leptina, PCR e insulina. Durante esa misma consulta se realizó la toma de somatometría, que incluyó medición de talla, peso, perímetro de cintura, tensión arterial sistémica (Anexo 6), porcentaje de grasa corporal a través de bioimpedancia, de acuerdo a los métodos establecidos para realizarlo y un cuestionario para evaluar el sedentarismo (Anexo 8). También se documentó el desarrollo puberal a través de la escala de Tanner mamario y púbico (Anexo 9).
4. La alumna de maestría contactó cada 6 meses a las pacientes durante la consulta habitual que recibieron en el servicio de Endocrinología, hasta terminar 12 meses de seguimiento. Durante cada una de estas citas se documentó la dosis de leuprolide que recibían, la supresión en forma correcta de la pubertad, exploración e interrogatorio para descartar proceso infeccioso agudo, medición

- de talla, peso, perímetro de cintura, tensión arterial sistémica, porcentaje de grasa corporal y un cuestionario para medir el sedentarismo. Dentro de los estudios de rutina que requiere la paciente para el seguimiento de la PPC, se tomó 3 mililitros extra de sangre a través de punción venosa para medir niveles séricos de glucosa, c-HDL, c-LDL, triglicéridos, leptina, PCR e insulina.
5. También durante el seguimiento, cuando su médico tratante modificó la de dosis de análogos de GnRH, se documentó en la hoja de recolección de datos. En caso que su médico tratante determinó que la inhibición de la pubertad no se había logrado, se consideró como criterio de eliminación.
 6. En cada una de las pacientes que se detectó incremento patológico en los niveles séricos de triglicéridos, glucosa, disminución patológica de c-HDL, o bien, la presencia de sobrepeso u obesidad se informó al médico tratante del servicio de Endocrinología. En quienes se consideró la necesidad de otorgar tratamiento específico para alguno de estos problemas, se documentó en la hoja de recolección.
 7. La alumna de maestría realizó interrogatorio y exploración física completa previo a la toma de la muestra sanguínea para identificar procesos infecciosos agudo y se documentó en la hoja de recolección de datos su ausencia o presencia. En caso de estar presente un proceso infeccioso agudo, la medición de PCR fue excluida del análisis.
 8. Se consideró como variables confusoras aquellas que podrían modificar los niveles basales de leptina como el estadio de Tanner al diagnóstico de la PPC, la actividad física y el estado nutricional inicial de acuerdo al IMC.

Vigilancia de las pacientes



Procesamiento de muestras

1. La muestra de sangre para medir glucosa, colesterol HDL y triglicéridos fue procesada en el laboratorio central del Hospital de Pediatría el mismo día de su toma.
2. Para el estudio de los niveles séricos de leptina, insulina y PCR la sangre tomada fue centrifugada, y el suero congelado en 2 alícuotas de 0.5 ml en congelador que pertenece a la Red fría del Hospital de Pediatría a -70°C . La determinación de estas tres variables se procesaron al final del estudio.

Análisis estadístico

Análisis descriptivo: Medidas de tendencia central y de dispersión de acuerdo con la escala de medición de las variables.

Análisis inferencial. Se aplicó la prueba de Shapiro wilk para comprobar normalidad de las variables cuantitativas, donde se observó que presentaban una distribución distinta a la normal, por lo que se al realizar el análisis diferencial se aplicaron pruebas estadísticas para distribución no paramétrica.

Se aplicó U de Mann Whitney para determinar la diferencia de la concentración sérica de leptina al diagnóstico entre las pacientes con desarrollo de uno o más factores cardiometabólicos y las que no los desarrollaron.

Se identificó el percentil 60 de la concentración sérica de leptina y se dividieron a las pacientes en 2 grupos (aquellas con concentración sérica de leptina en percentil 59 o menor y en aquellas con percentil 60 o mayor); se aplicó χ^2 para comparar la proporción de pacientes con desarrollo de factores y las concentraciones sérica de leptina de acuerdo al percentil 60 o más.

Se realizó una correlación de Spearman entre los niveles de leptina y el valor cuantitativo de cada uno de los factores cardiometabólicos. Para determinar la diferencia en el comportamiento de los niveles de leptina sérica (al diagnóstico, 6 meses y 12 meses) con el desarrollo de factores cardiometabólicos se aplicó análisis de varianza.

Se realizaron 2 modelos para el control de las variables de confusión, el primero fue una regresión lineal para determinar la relación de los niveles de leptina al diagnóstico con el valor cuantitativo de cada factor cardiometabólico y una regresión

logística para determinar la relación de los niveles de leptina con el desarrollo de factores cardiometabólicos.

Para la realización de los diferentes análisis estadísticos, se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 17.0.

ASPECTOS ÉTICOS

El presente protocolo se apega a los lineamientos de la Declaración de Helsinki y a al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud vigente, acerca de investigación en seres humanos.

Riesgo de la investigación

De acuerdo con lo establecido en el Reglamento y conforme a los aspectos éticos de la investigación en seres humanos, Título II, Capítulo I, artículo 17, el estudio se considera de riesgo mínimo.

Estudio en población vulnerable:

Los potenciales participantes son una población vulnerable ya que se trata de menores de edad. Se ha procurado que disminuir los riesgos del estudio al tomar el 80% de las muestras sanguíneas al mismo tiempo que los estudios habituales que se solicitan a estas pacientes durante su seguimiento. Se solicitó la participación en el estudio a sus padres mediante la carta de consentimiento informado, además de la carta asentimiento informado a las pacientes mayores de ocho años (Anexo 7 y 8).

Contribuciones y beneficios del estudio para los participantes y la sociedad:

Si bien no existe ningún beneficio directo a los sujetos de investigación, es un estudio de riesgo mínimo. Por otro lado, los beneficios para la sociedad que brindará esta investigación será explorar el comportamiento de esta población con respecto a los niveles de leptina y su relación con factores cardiometabólicos. Aquellas pacientes que fueron detectadas con alteraciones en los estudios realizados, se le

informó a su médico tratante de endocrinología y envió al servicio de nutrición para su atención, y recomendó actividad física rutinaria.

Confidencialidad:

Para conservar la privacidad y confidencialidad de las pacientes, la información se manejó en una base de datos, la cual está codificada para evitar que sean identificadas y solo los investigadores principales tendrán acceso a esta información. De igual forma, en caso que los resultados del estudio sean publicados, los nombres de las participantes no serán divulgados.

Condiciones en las cuales se solicitará el consentimiento:

El consentimiento informado se solicitó por la alumna de maestría, una vez que se confirmó el diagnóstico de PPC idiopática por los médicos tratantes del servicio de Endocrinología. Los médicos tratantes de endocrinología dieron los datos de las pacientes para que de manera independiente, la alumna de maestría, la Dra. Jessie Nallely Zurita Cruz, contactó a los padres de las potenciales participantes para explicarles en qué consistía el estudio para solicitarles su consentimiento informado. Es de señalar que la Dra. Zurita, no forma parte de los médicos tratantes de estas pacientes.

Forma de selección de los pacientes:

Se invitó a todos los pacientes con el diagnóstico de PPC que fueron referidos a la Consulta Externa del Servicio de Endocrinología del Hospital de Pediatría de Centro Médico Nacional Siglo XXI, sin distinción de su nivel económico o sus antecedentes culturales o religiosos.

Aprobación del protocolo de investigación:

El protocolo fue sometido a evaluación y aprobado por parte del Comité Local de Investigación y Ética en Salud de la UMAE Hospital de Pediatría, del Centro Médico Nacional Siglo XXI, con número de aprobación R-2012-3603-83.

FACTIBILIDAD

Recursos humanos

Pacientes

El servicio de Endocrinología Pediátrica del Hospital de Pediatría de CMN SXXI recibe a las pacientes con diagnóstico de pubertad precoz de los estados de Guerrero, Chiapas, Querétaro, Morelos, Tlaxcala y Distrito Federal que requieran tratamiento con análogos de GnRH.

Investigadores

Médicos colaboradores, adscritos del Servicio de Endocrinología Pediátrica de la UMAE Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional XXI

- Dra. Eulalia Garrido Magaña y Dra. Aleida de Jesús Rivera Hernández

El alumno de Maestría en ciencias participó en la selección y evaluación de las pacientes durante los 12 meses de duración del seguimiento de los pacientes.

Infraestructura

El Hospital de Pediatría cuenta con la infraestructura necesaria para la medición de las diferentes variables consideradas en el protocolo.

Recursos materiales

- a. Papelería para hojas de recolección de datos, asentimiento y consentimiento informado
- b. Plumones para identificar las muestras a través de los folios designados
- c. Material para toma de muestras incluyendo jeringas, agujas, ligadura y tubos
- d. Papelería para la impresión del proyecto y empastado

Recursos financieros

Se solicitó financiamiento para la adquisición de reactivos para la determinación sérica de leptina.

RESULTADOS

En la consulta externa del servicio de Endocrinología Pediátrica, en el periodo enero del 2012 a mayo del 2014, se identificaron un total de 29 pacientes con sospecha de PPC que cumplían con los criterios de inclusión, sin embargo siete pacientes fueron excluidas, ya que tres padecían hiperplasia suprarrenal congénita, tres tenían antecedente de peso bajo al nacer y los padres de una paciente no aceptaron participar.

La mediana de la edad de las 22 pacientes fue de 7 años (min 2 años, max 9 años) y una edad ósea de 10 años (min 3 años, max 13.5 años), con una relación edad ósea/edad cronológica mayor a uno en todos los casos. El peso al nacimiento tuvo una variación de 2500g a 3700g y en el 27.2% había antecedente de obesidad, hipertensión arterial o DM2 en los padres.

En cuanto al diagnóstico, en 14 pacientes se realizó a través de datos clínicos y estudios hormonales basales (mediana de LH 1.23mU/ml, FSH 2.33mU/ml, estradiol 24.44pg/ml); mientras que en 8 (36.36%) no fueron concluyentes por lo que se les realizó prueba de estimulación con análogos de GnRH.

En el momento del diagnóstico de PPC, 13 pacientes tenían un desarrollo puberal con Tanner 2 y nueve (40.9%) en estadio 3.

Los datos de somatometría y los estudios bioquímicos al inicio y al final del seguimiento se presentan en el Cuadro 1; destaca el HDLc disminuido con una mediana de 46.8 mg/dl y leptina sérica mayor a la esperada para la edad con una mediana de 10.09 ng/ml. Como se observa a los 12 meses, la mayoría de las mediciones aumentaron, estadísticamente significativas fueron el perímetro de cintura, la grasa corporal y los triglicéridos. La TA y el HDLc no tuvieron modificaciones.

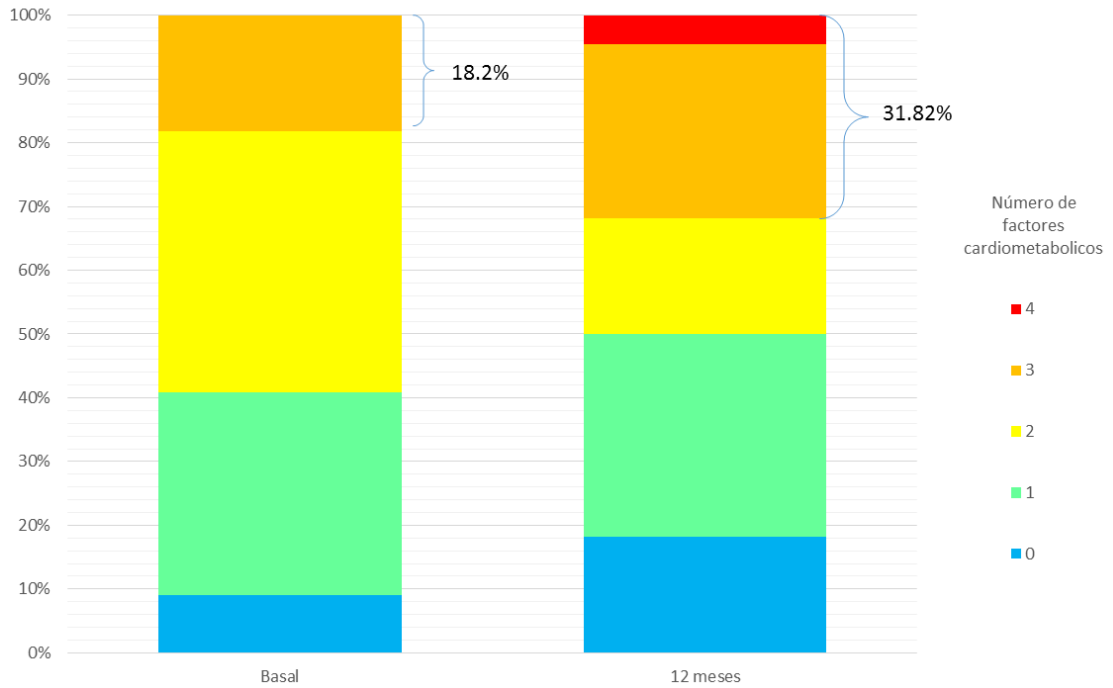
Cuadro 1. Determinaciones somatométricas y bioquímicas en el seguimiento de 22 pacientes con PPC al inicio y 12 meses después

	Al diagnóstico	12 meses	p
	mediana (min-max)	mediana (min-max)	
IMC (SZ)	1.14 (-0.59, 2.13)	1.33 (-0.27, 2.02)	0.312
Perímetro de cintura (cm)	61.3 (46.5-75)	65.25 (51-74.6)	0.0002
Percentil perímetro cintura	75 (10-90)	75 (10-90)	0.044
Grasa corporal (%)	17.55 (13-34.2)	28.1 (24.9-37.2)	<0.001
Glucosa (mg/dl)	86.5 (72-97.4)	91.2 (79.2-98.6)	0.038
c-LDL (mg/dl)	85.4 (41.2-142)	88.7 (41-139)	0.081
c-HDL (mg/dl)	46.3 (23.7-86.3)	47.2 (35-79)	0.713
Triglicéridos (mg/dl)	78.5 (43-221)	93 (38-307)	0.177
Presión sistólica (mmHg)	90 (80-103)	90 (80-100)	0.041
Percentil presión sistólica	5 (5-10)	5 (5-10)	0.164
Presión diastólica (mmHg)	60 (50-70)	60 (60-70)	0.032
Percentil presión diastólica	5 (5-5)	5 (5-10)	0.164
Insulina (μUI/ml)	9.4 (3.63-31.78)	11.1 (3.51-24.7)	0.170
HOMA	2.08 (0.7-6.41)	2.44 (0.85-5.25)	0.129
PCR (mg/L)	0.64 (0.06-4.67)	1.19 (0.06-9.44)	0.098
Leptina (ng/ml)	10.09 (2.14-11.34)	10.92 (2.22-11.75)	0.017

Al categorizar los factores cardiometabólicos en las pacientes, se observó que al inicio un alto porcentaje ya presentaban hipoalfalipoproteinemia (72.7%), seguido de hipertrigliceridemia y obesidad. Al final del seguimiento hubo incremento en la proporción de hipertrigliceridemia seguido por obesidad. (Cuadro 2).

Cuadro 2. Factores cardiometabólicos en 22 pacientes con PPC		
	Al diagnóstico	12 meses
	n (%)	n (%)
Obesidad	8 (36.36)	9 (40.18)
Hiperglucemia	0	0
Hipoalfalipoproteinemia	16 (72.73)	13 (59.1)
Hipertrigliceridemia	9 (40.91)	11 (50)
Hipertensión arterial sistémica	0	0
Resistencia a la insulina	4 (18.2)	4 (18.2)

Figura 1. Porcentaje de factores cardiometabólicos en el seguimiento de las pacientes con pubertad precoz central



Por número de factores, inicialmente el 18.2% de las pacientes presentaban más de 3 factores cardiometabólicos y a los 12 meses de seguimiento aumentó el porcentaje de pacientes que presentaban 3 o más factores (31.82%) además, hubo una paciente que a los 12 meses tenía 4 factores cardiometabólicos (Figura 1).

El cambio en los factores cardiometabólicos en 12 meses de seguimiento fue: de las 2 pacientes que no presentaba algún factor, en una se agregó hipertrigliceridemia, obesidad y resistencia a la insulina y la otra se mantuvo igual. También destacan cuatro pacientes al inicio presentaban alguna alteración cardiometabólica (una con resistencia a la insulina e hipertrigliceridemia, otra con hipertrigliceridemia e hipoalipoproteinemia, otra con obesidad e hipertrigliceridemia y la última solo con hipoalipoproteinemia), pero finalizaron sin factores cardiometabólicos. De las restantes 16 pacientes (72.7%) que iniciaron por lo menos con un factor, nueve desarrollaron uno y solo una desarrollo dos factores nuevos; las restantes (n=6) se mantuvieron con los mismos factores, donde incluimos a dos con hipoalipoproteinemia, una con obesidad, una con hipoalipoproteinemia y resistencia a la insulina, otra con hipertrigliceridemia y obesidad y la última con hipoalipoproteinemia, hipertrigliceridemia y obesidad.

Finalmente, la presencia de nuevos factores cardiometabólicos fue: cuatro pacientes evolucionaron a obesidad (una clasificada por perímetro de cintura y tres por szIMC), una hipoalipoproteinemia, siete hipertrigliceridemia, dos resistencia a la insulina y ninguna presentó hipertensión arterial sistémica o hiperglucemia.

A las pacientes que se identificó algún factor cardiometabólico, se le comentó a su médico tratante, quien dio recomendaciones de ejercicio, así como una dieta balanceada, de acuerdo a la edad.

La presencia de estadio en el desarrollo puberal Tanner 2, presento mayor proporción de aumento en los factores cardiometabólicos en comparación de las pacientes con estadio de Tanner 3 ($p=0.040$). El antecedente de obesidad, HAS y DM2 en los padres, ni el sedentarismo demostraron ser una condición que influyera en el desarrollo de factores cardiometabólicos ($p=0.318$, $p=0.500$) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Comparación de las pacientes con desarrollo de nuevos factores cardiometabólicos a 12 meses de seguimiento, relacionado con variables confusoras

Variables confusoras		Factores cardiometabólicos		p
		Sin la condición	Con la condición	
Estadio Puberal (Tanner)	2	4 (36.36)	9 (69.23)	0.040
	3	7 (63.64)	2 (18.18)	
Sedentarismo	Si	10 (47.62)	11 (52.38)	0.500
	No	1 (100)	0	
Antecedente familiar de Obesidad, Hipertensión arterial o DM2	Si	4 (66.67)	2 (33.33)	0.318
	No	7 (43.75)	9 (56.25)	

Para el análisis comparativo, se dividieron a las pacientes en aquellas que presentaron desarrollo de nuevos factores cardiometabólicos y las que no lo hicieron.

Se identificaron un total de 11 pacientes (50%) que presentaron incremento de por lo menos un factor cardiometabólico. Cuando se realizó la comparación de los factores entre el grupo que aumentaron (n=11) y el que no aumentaron (n=11), como se observa en el Cuadro 4, con excepción de la grasa corporal, glucosa y presión arterial sistémica, las medianas en la mayoría de los factores fueron mayores en el grupo con incremento de estos, identificando una diferencia estadísticamente significativa en percentil del perímetro de cintura ($p=0.050$), HDLc (56 mg/dl vs 43.4 mg/dl $p=0.001$) y triglicéridos (71 mg/dl vs 140 mg/dl $p=0.006$).

Cuadro 4. Comparación de determinaciones somatométricas y bioquímicas de acuerdo al aumento de uno o más factores cardiometabólicos a los 12 meses de seguimiento

	Grupo sin aumento de factores n=11	Grupo con aumento de factores n=11	p
IMC (SZ)	0.84 (-0.27,1.46)	1.52 (-0.03,1.86)	0.070
Perimetro de cintura (cm)	61 (51-73.6)	65.5 (56-74.6)	0.210
Percentil perímetro cintura	75 (10-90)	75 (50-90)	0.050
Grasa corporal (%)	27.8 (24.9-33.9)	28.2 (25.5-37.2)	0.231
Glucosa (mg/dl)	91.2 (83.4-98.6)	91.3 (79.2-98)	0.97
LDLc (mg/dl)	76 (41-104)	90 (52-139)	0.105
HDLc (mg/dl)	56 (38.4-79)	43.4 (35-51)	0.001
Triglicéridos (mg/dl)	71 (38-135)	140 (45-307)	0.004
Presión sistólica (mmHg)	90 (90-100)	90 (90-100)	0.861
Percentil presión sistólica	5 (5-10)	5 (5-10)	0.127
Presión diastólica (mmHg)	60 (60-70)	60 (60-70)	0.663
Percentil presión diastólica	5 (5-5)	5 (5-10)	0.402
Insulina (μUI/ml)	9.75 (3.51-22.4)	11.81 (7.8-24.7)	0.147
HOMA	2.21 (0.85-4.73)	2.71 (1.77-5.25)	0.140
PCR (mg/L)	0.95 (0.09-9.44)	1.8 (0.06-5.46)	0.402
Leptina al diagnóstico (ng/ml)	8.85 (2.14-11.75)	10.09 (5.53-11.34)	0.154

Se identificó que la concentración sérica de leptina en el percentil 66, fue de 10.10 ng/ml, y de acuerdo a esto se dividieron a las pacientes en 2 grupos (aquellas con concentración sérica de leptina 10.09 ng/ml o menor y aquellas con 10.10 ng/ml) y al comparar la proporción de pacientes con desarrollo de factores cardiometabólicos y las concentraciones sérica de leptina, se observó una tendencia a ser mayor en aquellas niñas que tenían una concentración sérica de leptina por arriba de la percentil 66. (Cuadro 5)

Cuadro 5. Comparación de la proporción de pacientes con desarrollo de factores cardiometabólicos y la concentración sérica de leptina de acuerdo a percentiles

Factores cardiometabólicos	Percentil de la concentración sérica de leptina al diagnóstico	
	65 o menor (leptina \leq 10.09 ng/ml)	66 o más (leptina \geq 10.10 ng/ml)
	n (%)	n(%)
Sin aumento ⁺	9 (81.82)	2 (18.18)
Con aumento ⁺	6 (54.55)	5 (45.45)
szIMC al diagnóstico*	1.12 (-0.59 – 2.1)	1.5 (0.76 – 2.13)
szIMC 12 meses*	0.84 (-0.27 – 1.8)	1.62 (0.57 – 2.02)

⁺p=0.197

*Mediana (min-max)

Al comparar a las pacientes de acuerdo al número de factores, podemos observar una tendencia a tener más número de factores las pacientes con una concentración sérica de leptina mayor a la percentil 66. (Cuadro 6)

Cuadro 6. Comparación de la proporción de pacientes de acuerdo al número de factores cardiometabólicos y la concentración sérica de leptina de acuerdo a percentiles

Número de factores cardiometabólicos	Percentil de la concentración sérica de leptina al diagnóstico	
	65 o menor (leptina ≤ 10.09 ng/ml) n (%)	66 o más (leptina ≥ 10.10 ng/ml) n(%)
0	4 (36.36)	0 (0)
1	4 (36.36)	3 (27.27)
2	2 (18.18)	2 (18.18)
3	1 (9.09)	5 (45.45)
4	0 (0)	1 (4.55)
szIMC al diagnóstico*	1.12 (-0.59 – 2.1)	1.5 (0.76 – 2.13)
szIMC 12 meses*	0.84 (-0.27 – 1.8)	1.62 (0.57 – 2.02)

p=0.097

*Mediana (min-max)

Los niveles de leptina al diagnóstico pueden ser modificados por otras condiciones. De acuerdo al estadio de Tanner, pudimos observar una tendencia a ser mayores los niveles de leptina en las pacientes con estadio de Tanner 2, sin ser estadísticamente significativo ($p=0.072$). Tampoco hubo diferencia estadística en los niveles de leptina al diagnóstico de acuerdo al índice de masa corporal basal (0.332 $p=0.131$) y el sedentarismo ($p=0.408$) en las pacientes. (Cuadro 7).

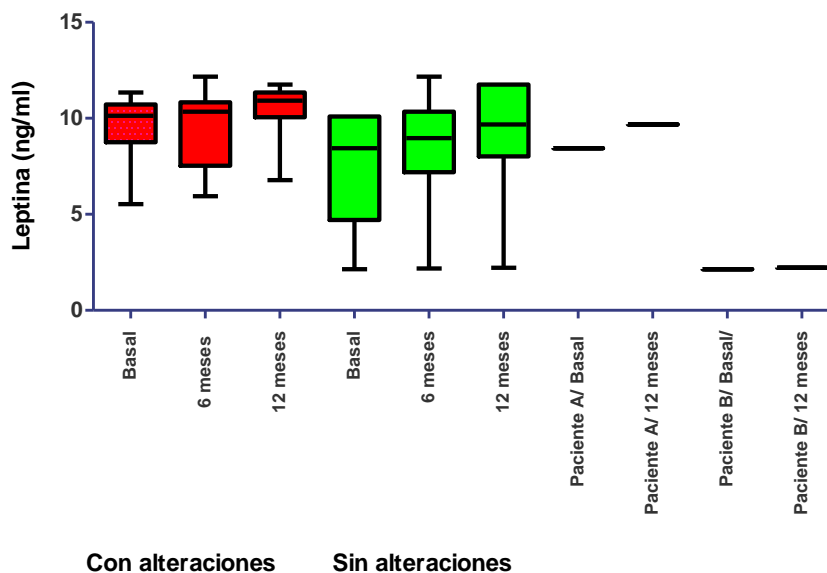
Cuadro 7. Niveles de leptina al diagnóstico de acuerdo a la variables confusoras

Variables confusoras		n	Leptina Mediana (min-max)	p
Estadio Puberal (Tanner)	2	13	10.09 (5.53-11.75)	0.072
	3	9	8.85 (2.14-11.34)	
Sedentarismo	Si	21	10.09 (2.14-11.75)	-
	No	1	4.71	

Al comparar los niveles séricos de leptina al diagnóstico entre el grupo de pacientes que no desarrollaron factores (mediana 8.85 ng/ml) con el que si desarrollaron (mediana 10.09 ng/ml), se observó con tendencia a ser mayor. ($p=0.154$) (Cuadro 4). Considerando el tiempo, se comparó la leptina a los 6 y 12 meses de seguimiento, y como podemos observar en la Figura 4, hubo una tendencia a ser mayor en el grupo con desarrollo de factores, sin embargo, en el análisis de varianza, no hubo diferencia estadística ($p=0.150$).

Con el propósito de hacer una comparación, en la misma figura se incluyeron a 2 pacientes que finalizaron sin factores, la paciente "A" inicio con 2 factores y los niveles de leptina aumentaron de 8.44 a 9.68 ng/ml, y la pacientes B en ningún momento presento factores, y sus niveles de leptina fueron de 2.14 a 2.22ng/ml; siendo comparativamente menores con el grupo de pacientes que desarrollaron algún factor cardiometabólico.

Figura 4. Comapración de los niveles de leptina en pacientes con y sin el desarrollo de factores cardiometabolicos



Se correlacionaron los valores de cada uno de los factores cardiometabólicos a los 12 meses con los niveles de leptina al diagnóstico, en donde se identificó una correlación estadísticamente significativa con el perímetro de cintura (0.581 $p=0.014$), el c-LDL (0.458 $p=0.031$) y el c-HDL (-0.548 $p=0.026$) (cuadro 8)

Cuadro 8. Correlación de la leptina basal y a los 12 meses con los factores cardiometabólicos durante el seguimiento de las pacientes con PPC

Condición a los 12 meses de seguimiento	Total n=22	
	Leptina basal	
	r	p
IMC (SZ)	0.438	0.041
Perímetro de cintura (cm)	0.512	0.014
Grasa corporal (%)	0.204	0.361
Glucosa (mg/dl)	-0.074	0.741
LDLc (mg/dl)	0.458	0.031
HDLc (mg/dl)	-0.49	0.020
Triglicéridos (mg/dl)	0.100	0.655
Presión sistólica (mmHg)	0.013	0.959
Presión diastólica (mmHg)	-0.067	0.796
Insulina	0.306	0.166
HOMA	0.403	0.108
PCR	0.416	0.054

A fin de determinar la relación entre leptina y el desarrollo de factores cardiometabólicos, se realizó análisis regresión logística, donde se incluyeron las variables potencialmente confusoras como el estadio de Tanner y el szIMC al inicio del seguimiento, en donde no se identificó una relación estadísticamente significativa que influyera sobre el desarrollo de factores. (Cuadro 9)

Cuadro 9. Regresión logística para el desarrollo de factores cardiometabólicos a los 12 meses de seguimiento

	coeficiente	OR	Intervalo de confianza	p
Leptina al diagnóstico	0.1767	1.19	0.79 – 1.78	0.389
Tanner 2	1.067	2.907	0.385 – 21.93	0.301
szIMC basal	-0.565	0.567	0.139 – 2.308	0.429

Para determinar la relación de los niveles de leptina al diagnóstico con el valor de cada uno de los factores a los 12 meses de seguimiento, se hicieron múltiples modelajes donde se incluyeron el szIMC, perímetro de cintura, LDLc, HDLc, insulina, HOMA y PCR, ajustándolo por el estadio de Tanner, szIMC basal, número de factores basales, sedentarismo y el valor inicial de cada factor.

Discusión

En el presente estudio se determinó el comportamiento antropométrico y metabólico de niñas con PPC durante el primer año de seguimiento, después del inicio de análogos de GnRH, y su relación con la concentración sérica de leptina, observando una tendencia en las pacientes con mayores concentraciones de leptina en el momento del diagnóstico, presentaron incremento en el número de factores cardiometabólicos, tras un año de vigilancia.

En estudios previos^{109,110,134} donde también se ha evaluado las modificaciones de los componentes del perfil cardiometabólico se ha descrito que tanto el IMC como los niveles de insulina, triglicéridos y c-LDL aumentan después de 6 meses de iniciar con tratamiento. Sin embargo, en dichos estudios se han analizado las modificaciones desde el punto de vista cuantitativo cada uno de los factores, pero no la frecuencia del cambio basado en niveles de corte para considerarlos anormales. Por esta razón, y con el propósito de ampliar la información disponible, desde un principio en la presente investigación se consideró averiguar el comportamiento de los factores para establecer -en su caso- medidas terapéuticas basadas en las recomendaciones actuales. De esta forma se determinó que ya desde el momento del diagnóstico de la PPC, 18.2% tenían tres factores cardiometabólicos y que después del primer año se incrementa la proporción a 31.8%. Después de un año de vigilancia, se detectó que 59.1% tenía hipoalfalipoproteinemia, 40.18% obesidad, 50% hipertrigliceridemia y 18.2% resistencia a la insulina. De éstos, los únicos factores cardiometabólicos que incremento en la frecuencia fueron la hipertrigliceridemia (de 40.9 a 50%) y obesidad (de 36.6% a 40.18%). Esta observación sobre los niveles de triglicéridos está acorde a otros estudios; por ejemplo, Sørensen¹⁰⁹ reportó aumento de 69.97 mg/dl a 77.94 mg/dl a 12 meses de

seguimiento; mientras que Karamizadeh¹³³ describió el incremento de 90.06 a 96.4 mg/dl tras 6 meses de seguimiento. Desde el punto de vista cuantitativo, en las pacientes estudiadas, el aumento en los niveles de triglicéridos fue de 78.5 a 93 mg/dl. A diferencia de los triglicéridos, aún y cuando no ha sido consiste entre los diferentes estudios publicados, se ha demostrado que tanto el IMC, como el perímetro de cintura, insulina y LDLc incrementan durante la vigilancia a 6 y 12 meses. En el presente estudio se observó un incremento en el perímetro de cintura de 61.3 a 65.2 cm.

De las 22 pacientes que se incluyeron en este estudio, 11 pacientes (50%) presentaron aumento en el número de factores al finalizar primer año de vigilancia; al comparar a estas pacientes con las que no presentaron aumento, se identificaron diferencias significativas en el szIMC, LDLc, HDLc, y el puntaje de HOMA en el primer año de vigilancia. Los resultados de estas observaciones pueden ser comparables con lo observado por Emre y cols¹¹⁰, donde se analizaron los factores cardiometabólicos de pacientes con PPC que aumentaron el szIMC a un año de seguimiento con las que no lo incrementaron y se identificó diferencias en los niveles séricos de insulina (4.2 μ U/ml vs 0.96 μ U/ml) y el puntaje de HOMA (4.85 vs 1.37). Ante esto podemos concluir que las pacientes con incremento en el IMC o aumento de otro factor cardiometabólico en el primer año de vigilancia tienen un perfil bioquímico adverso.

Por otro lado, la leptina es una hormona que se relaciona con la cantidad de grasa corporal, pero también es importante para el inicio de la pubertad. Los niveles séricos de leptina en pacientes con PPC han sido descritos por Palmer⁹³, Verotti⁹⁴ y Su⁹⁵, quienes respectivamente reportan los siguientes valores: 10 ± 1.1 ng/ml, 9 ± 0.8 ng/ml y 7.6 ± 5.7 ng/ml. Esto es semejante a lo encontrado en nuestras

pacientes, donde la mediana al momento del diagnóstico fue de 10.09 ng/ml (min 2.14 ng/ml, max 11.34 ng/ml), observando también incremento en forma paulatina durante el primer año de vigilancia para llegar a 10.92 ng/ml (min 2.22 ng/ml, max 11.75 ng/ml). Este hallazgo es diferente a lo reportado por Su y col.¹³⁵ en 37 niñas con PPC donde no hubo modificaciones en los niveles de leptina durante el primer año de vigilancia posterior a la supresión con análogos de GnRH.

Hasta donde sabemos, el presente estudio es el primero que relaciona los niveles de leptina con el desarrollo de los factores cardiometabólicos en pacientes con PPC. Se observó una tendencia a que las concentraciones séricas de leptina al diagnóstico fueron mayores en las pacientes que presentaron nuevos factores cardiometabólicos después del primer año de vigilancia, en comparación con las que no los desarrollaron (8.85 ng/ml vs 10.09 ng/ml $p=0.154$). En estudios anteriores, realizados en población pediátrica prepúber y púber, se ha demostrado una relación directamente proporcional entre los niveles de leptina y un perfil cardiometabólico más desfavorable, en vista de un mayor número de pacientes con obesidad y síndrome metabólico (OR 4.25 IC 95% 1.01-17.8).^{136,71,73} Además, en otras publicaciones la leptina se ha evaluado como marcador pronóstico con resultados contradictorios; por ejemplo, en un estudio realizado con 196 niños daneses quienes fueron seguidos por 6 años¹³⁷, valores mayores de leptina no se relacionaron con el incremento de los factores asociados con el síndrome metabólico al término del tiempo de vigilancia. Por el contrario, en estudios realizados en población adulta^{138,139} se ha demostrado que después de 2 años de vigilancia, niveles elevados de leptina tienen implicaciones desde el punto de vista pronóstico para el desarrollo de factores cardiometabólicos, pero siempre y cuando los sujetos tuvieran un IMC inicial < 25.

El incremento de la grasa corporal durante el seguimiento en el primer año de vigilancia de las pacientes con PPC ha sido descrito por Sørensen¹⁰⁹ y Emre¹¹⁰ que van de 23.8% a 29.2% $p < 0.05$ y 22.38% a 29.52% $p < 0.05$, respectivamente. Esto también fue observado en la presente investigación donde la grasa corporal aumento de 16.1% a 27.4%. Al comparar a estas pacientes con niñas de su misma edad y estadio puberal, se observó que el porcentaje de grasa fue mayor, al igual que los niveles de leptina sérica; se ha observado que la leptina es un marcador indirecto de la cantidad de la grasa corporal y uno de los detonantes del inicio de la pubertad. El identificar en esta población porcentajes elevados de grasa corporal, podría ser el comienzo para complicaciones futuras y considerarlas como una población con mayor riesgo de desarrollar factores cardiometabólicos a largo plazo.

Al realizar el análisis multivariado entre el puntaje de HOMA y los niveles séricos de leptina al diagnóstico, se identificó que el estadio de Tanner 3 al diagnóstico de las pacientes influía a tener mayor incremento en los valores de HOMA, a pesar de estar bioquímicamente y clínicamente suprimidas. Si bien está descrito que los adolescentes con estadio de Tanner 3 pueden presentar niveles más altos en el puntaje de HOMA, secundario a la producción de hormonas contrareguladoras asociadas al crecimiento, nuestras pacientes están en tratamiento farmacológico que suprimen la pubertad. Si bien, los análogos de GnRH suprimen la producción de hormonas sexuales, que detienen el desarrollo de caracteres secundarios, estas no son las únicas involucradas en los cambios puberales, por lo que puede ser que el resto de las hormonas contrareguladoras no se supriman en su totalidad y condicionen resistencia a la insulina.

Por otro lado, además de estudiar la relación de la concentración sérica de leptina con el número de factores cardiometabólicos al finalizar el seguimiento de las

pacientes, en el presente estudio se evaluó la relación de la leptina sérica al diagnóstico con cada uno de los factores después de 12 meses de seguimiento ajustado por el szIMC y el desarrollo puberal. De esta forma, el único factor que se asoció con la concentración sérica de leptina fue el puntaje de HOMA, observando que aumenta conforme mayores son los niveles de leptina en el momento del diagnóstico. Esta relación se puede atribuir a las citocinas producidas por el tejido adiposo, que condicionan una resistencia a la insulina en los tejidos periféricos, aunado a niveles elevados de leptina, que refleja en forma indirecta resistencia a la leptina y contribuyendo a la oxidación reducida de ácidos grasos, que a su vez promueve resistencia a la insulina; la combinación de estos mecanismos patogénicos podrían condicionar en forma significativa el empeoramiento de las condiciones metabólicas y lo que nosotros observamos en el primer año de vigilancia, ser solo el inicio de una cascada de eventos que finalizarían con la aparición de enfermedad cardiovascular.⁸⁹

Por último, es necesario considerar que los resultados del presente estudio deben contextualizarse tomando en cuenta sus limitaciones. Uno de ellos es el tamaño de muestra; ante la falta de antecedentes de estudios similares inicialmente se calculó un tamaño de muestra de 3 sujetos por grupo y estadio de Tanner para comparar los niveles de leptina al diagnóstico con el desarrollo de factores cardiometabólicos durante el primer año de vigilancia, basado en los estudios de Veronti⁹³ y Antunes⁶⁶. Estos autores reportaron niveles de leptina 9 ± 0.08 ng/ml y de 37.0 ± 22.3 ng/ml en pacientes con PPC y niñas obesidad, respectivamente. Con los datos del presente estudio, se recalculó el tamaño de muestra y se considera que es necesario estudiar un total de 20 pacientes a fin de demostrar la diferencia de los niveles de leptina al diagnóstico con el desarrollo de factores cardiometabólicos, independientemente del

estadio de Tanner y estado nutricional (obesidad, sobrepeso y peso adecuado). Otro factor que pudo también influir en los resultados es el tiempo de vigilancia; de acuerdo con los estudios de Sørensen y Emre pareciera ser necesario ampliarlo y nuestra recomendación es hasta completar el desarrollo puberal, en donde podríamos observar la evolución del síndrome metabólico o síndrome de ovarios poliquísticos.¹⁰⁰

Las recomendaciones derivadas de los resultados de este estudio para las pacientes con PPC en la aplicación clínica es considerar que los niveles séricos elevados de leptina y el estadio de Tanner 3 al diagnóstico, podrían ser un marcador pronóstico para el desarrollo de nuevos factores cardiometabólicos o una evolución desfavorable de los mismos. A nivel de investigación, proponemos que se deben realizar otros estudios donde se incluya no solo medir los niveles séricos de leptina, sino incluir otras adipocinas, como la adiponectina, que ha demostrado en población pediátrica ser un importante marcador pronóstico en el desarrollo de factores cardiometabólicos.¹³⁵ Además, parece necesario ampliar la vigilancia a mayor plazo, para determinar si la evolución de los factores cardiometabólicos se modifica después del reinicio de la pubertad.

CONCLUSIONES

- I. El 50% de las pacientes, aumentaron 1 o más factores cardiometabólicos después del primer año de seguimiento posterior al inicio de tratamiento con análogos de GnRH.
- II. A partir del diagnóstico los niveles de leptina aumentaron paulatinamente a los 6 y 12 meses durante el seguimiento.
- III. La leptina sérica al diagnóstico parece relacionarse con el incremento de factores cardiometabólicos después del primer año de seguimiento posterior al inicio de tratamiento con los aGnRH.
- IV. De todos los factores cardiometabólicos estudiados, el valor del índice de HOMA a los 12 meses de seguimiento mostró una asociación con la leptina sérica al diagnóstico.

ANEXO 1

Manual de procedimiento del servicio de Endocrinología Pediátrica para el diagnóstico y seguimiento de pacientes con pubertad precoz central idiopática

DIAGNOSTICO

Identificar a las pacientes con sospecha de pubertad precoz central enviadas a la consulta externa e iniciar protocolo establecido para diagnóstico de PPC idiopática¹¹

1. Exploración física completa identificando estadio puberal y evaluandolo a través de la escala de Tanner,
2. Solicitar estudios complementarios incluyendo
 - a. Edad ósea (Radiografías AP de mano no dominante, AP de pelvis, AP de hombro, AP de hombro, AP y lateral de pie) evaluándola a través de la técnica de Greulich and Pyle¹⁴⁰
 - b. Estudios hormonales que incluyen hormona luteinizante (LH), hormona folículo estimulante (FSH) y estradiol.
 - c. Somatometria completa
3. Se considera diagnóstico de pubertad precoz con los siguientes criterios¹¹:
 - a. Inicio de desarrollo puberal (Tanner 2) en menores de 8 años de edad cronológica.
 - b. LH basal mayor de 0.6U/l ¹⁸
 - c. Incremento de la velocidad de crecimiento por arriba de 2 desviaciones estándar para la edad y el avance de la edad ósea por lo menos un año más de edad cronológica
4. En caso de sospecha clínica sin evidencia bioquímica de activación del eje hipotálamo-hipofisis –gonada se realiza prueba de estimulación con aGnRH: consiste en aplicar leuprolide dosis unica de 3.75 mg intramuscular a las 7:00am. Se considera positivo cuando la LH sérica es mayor a 5U/L a las 2 horas posteriores de la aplicación del medicamento
5. De acuerdo a criterio del médico tratante, se puede solicitar ultrasonido pélvico, el cual es una herramienta más para el diagnóstico donde se espera longitud de útero superior a 3.5 cm y el volumen ovárico mayor de 1,5 cm³
6. En pacientes menores de 6 años se realizan estudios de imagen a nivel de silla turca Sin evidencia en hipotálamo-hipófisis de lesiones orgánicas en imágenes por tomografía axial computada o resonancia magnética.

SEGUIMIENTO

1. Se citará a la paciente 3 meses después de haber iniciado el tratamiento con análogos de GnRH
2. En esa cita se aplicará la dosis correspondiente de leuprolide intramuscular y se tomara muestra sérica de LH, FSH y estradiol a las 2 horas posteriores a su aplicación.
3. Se considerará que la paciente se encuentra con adecuada supresión de la pubertad si LH 2 horas posterior a la aplicación del medicamento es menor de 6.6U/l.
4. En caso contrario, se aumentará la dosis del medicamento correspondiente.
5. Las pacientes que se encuentren con adecuada supresión continuaran con la misma dosis de medicamento con nueva valoración a los 6 meses posteriores haber iniciado el tratamiento
6. En la cita de los 6 meses posteriores al inicio del tratamiento se realizará exploración física y evaluación del desarrollo puberal a través de la escala de

Tanner, somatometria completa y muestra sérica basal de LH, FSH y estradiol.

- a. En caso de detectar progresión de la pubertad, incremento en la velocidad de crecimiento o estudios hormonales alterados (LH mayor de $0.6U/l^{18}$, se realizará ajuste del tratamiento por el médico tratante
7. En la cita de los 12 meses posteriores al inicio del tratamiento se realizará exploración física y evaluación del desarrollo puberal a través de la escala de Tanner, somatometria completa, muestra sérica basal de LH, FSH, estradiol y radiografías para evaluar edad ósea.
- a. En caso de detectar progresión de la pubertad, incremento en la velocidad de crecimiento o estudios hormonales alterados, aunado a la aceleración de la edad ósea se realizará ajuste del tratamiento por el médico tratante

Anexo 2
Percentilas de perímetro de cintura de acuerdo a la edad y sexo

	Percentile for boys					Percentile for girls				
	10 th	25 th	50 th	75 th	90 th	10 th	25 th	50 th	75 th	90 th
Intercept	39.7	41.3	43.0	43.6	44.0	40.7	41.7	43.2	44.7	46.1
Slope	1.7	1.9	2.0	2.6	3.4	1.6	1.7	2.0	2.4	3.1
Age (y)										
2	43.2	45.0	47.1	48.8	50.8	43.8	45.0	47.1	49.5	52.2
3	44.9	46.9	49.1	51.3	54.2	45.4	46.7	49.1	51.9	55.3
4	46.6	48.7	51.1	53.9	57.6	46.9	48.4	51.1	54.3	58.3
5	48.4	50.6	53.2	56.4	61.0	48.5	50.1	53.0	56.7	61.4
6	50.1	52.4	55.2	59.0	64.4	50.1	51.8	55.0	59.1	64.4
7	51.8	54.3	57.2	61.5	67.8	51.6	53.5	56.9	61.5	67.5
8	53.5	56.1	59.3	64.1	71.2	53.2	55.2	58.9	63.9	70.5
9	55.3	58.0	61.3	66.6	74.6	54.8	56.9	60.8	66.3	73.6
10	57.0	59.8	63.3	69.2	78.0	56.3	58.6	62.8	68.7	76.6
11	58.7	61.7	65.4	71.7	81.4	57.9	60.3	64.8	71.1	79.7
12	60.5	63.5	67.4	74.3	84.8	59.5	62.0	66.7	73.5	82.7
13	62.2	65.4	69.5	76.8	88.2	61.0	63.7	68.7	75.9	85.8
14	63.9	67.2	71.5	79.4	91.6	62.6	65.4	70.6	78.3	88.8
15	65.6	69.1	73.5	81.9	95.0	64.2	67.1	72.6	80.7	91.9
16	67.4	70.9	75.6	84.5	98.4	65.7	68.8	74.6	83.1	94.9
17	69.1	72.8	77.6	87.0	101.8	67.3	70.5	76.5	85.5	98.0
18	70.8	74.6	79.6	89.6	105.2	68.9	72.2	78.5	87.9	101.0

Fernández JR, Redden DT, Pietrobelli A, Allison DB. *J Pediatr* 2004;145:439-44

Anexo 3

Percentilas de presión arterial sistémica de acuerdo a la edad en niñas

TABLE 4. BP Levels for Girls by Age and Height Percentile

Age, y	BP Percentile	SBP, mm Hg							DBP, mm Hg						
		Percentile of Height							Percentile of Height						
		5th	10th	25th	50th	75th	90th	95th	5th	10th	25th	50th	75th	90th	95th
1	50th	83	84	85	86	88	89	90	38	39	39	40	41	41	42
	90th	97	97	98	100	101	102	103	52	53	53	54	55	55	56
	95th	100	101	102	104	105	106	107	56	57	57	58	59	59	60
	99th	108	108	109	111	112	113	114	64	64	65	65	66	67	67
2	50th	85	85	87	88	89	91	91	43	44	44	45	46	46	47
	90th	98	99	100	101	103	104	105	57	58	58	59	60	61	61
	95th	102	103	104	105	107	108	109	61	62	62	63	64	65	65
	99th	109	110	111	112	114	115	116	69	69	70	70	71	72	72
3	50th	86	87	88	89	91	92	93	47	48	48	49	50	50	51
	90th	100	100	102	103	104	106	106	61	62	62	63	64	64	65
	95th	104	104	105	107	108	109	110	65	66	66	67	68	68	69
	99th	111	111	113	114	115	116	117	73	73	74	74	75	76	76
4	50th	88	88	90	91	92	94	94	50	50	51	52	52	53	54
	90th	101	102	103	104	106	107	108	64	64	65	66	67	67	68
	95th	105	106	107	108	110	111	112	68	68	69	70	71	71	72
	99th	112	113	114	115	117	118	119	76	76	76	77	78	79	79
5	50th	89	90	91	93	94	95	96	52	53	53	54	55	55	56
	90th	103	103	105	106	107	109	109	66	67	67	68	69	69	70
	95th	107	107	108	110	111	112	113	70	71	71	72	73	73	74
	99th	114	114	116	117	118	120	120	78	78	79	79	80	81	81
6	50th	91	92	93	94	96	97	98	54	54	55	56	56	57	58
	90th	104	105	106	108	109	110	111	68	68	69	70	70	71	72
	95th	108	109	110	111	113	114	115	72	72	73	74	74	75	76
	99th	115	116	117	119	120	121	122	80	80	80	81	82	83	83
7	50th	93	93	95	96	97	99	99	55	56	56	57	58	58	59
	90th	106	107	108	109	111	112	113	69	70	70	71	72	72	73
	95th	110	111	112	113	115	116	116	73	74	74	75	76	76	77
	99th	117	118	119	120	122	123	124	81	81	82	82	83	84	84
8	50th	95	95	96	98	99	100	101	57	57	57	58	59	60	60
	90th	108	109	110	111	113	114	114	71	71	71	72	73	74	74
	95th	112	112	114	115	116	118	118	75	75	75	76	77	78	78
	99th	119	120	121	122	123	125	125	82	82	83	83	84	85	86
9	50th	96	97	98	100	101	102	103	58	58	58	59	60	61	61
	90th	110	110	112	113	114	116	116	72	72	72	73	74	75	75
	95th	114	114	115	117	118	119	120	76	76	76	77	78	79	79
	99th	121	121	123	124	125	127	127	83	83	84	84	85	86	87
10	50th	98	99	100	102	103	104	105	59	59	59	60	61	62	62
	90th	112	112	114	115	116	118	118	73	73	73	74	75	76	76
	95th	116	116	117	119	120	121	122	77	77	77	78	79	80	80
	99th	123	123	125	126	127	129	129	84	84	85	86	86	87	88
11	50th	100	101	102	103	105	106	107	60	60	60	61	62	63	63
	90th	114	114	116	117	118	119	120	74	74	74	75	76	77	77
	95th	118	118	119	121	122	123	124	78	78	78	79	80	81	81
	99th	125	125	126	128	129	130	131	85	85	86	87	87	88	89
12	50th	102	103	104	105	107	108	109	61	61	61	62	63	64	64
	90th	116	116	117	119	120	121	122	75	75	75	76	77	78	78
	95th	119	120	121	123	124	125	126	79	79	79	80	81	82	82
	99th	127	127	128	130	131	132	133	86	86	87	88	88	89	90
13	50th	104	105	106	107	109	110	110	62	62	62	63	64	65	65
	90th	117	118	119	121	122	123	124	76	76	76	77	78	79	79
	95th	121	122	123	124	126	127	128	80	80	80	81	82	83	83
	99th	128	129	130	132	133	134	135	87	87	88	89	89	90	91
14	50th	106	106	107	109	110	111	112	63	63	63	64	65	66	66
	90th	119	120	121	122	124	125	125	77	77	77	78	79	80	80
	95th	123	123	125	126	127	129	129	81	81	81	82	83	84	84
	99th	130	131	132	133	135	136	136	88	88	89	90	90	91	92
15	50th	107	108	109	110	111	113	113	64	64	64	65	66	67	67
	90th	120	121	122	123	125	126	127	78	78	78	79	80	81	81
	95th	124	125	126	127	129	130	131	82	82	82	83	84	85	85
	99th	131	132	133	134	136	137	138	89	89	90	91	91	92	93
16	50th	108	108	110	111	112	114	114	64	64	65	66	66	67	68
	90th	121	122	123	124	126	127	128	78	78	79	80	81	81	82
	95th	125	126	127	128	130	131	132	82	82	83	84	85	85	86
	99th	132	133	134	135	137	138	139	90	90	90	91	92	93	93
17	50th	108	109	110	111	113	114	115	64	65	65	66	67	67	68
	90th	122	122	123	125	126	127	128	78	79	79	80	81	81	82
	95th	125	126	127	129	130	131	132	82	83	83	84	85	85	86
	99th	133	133	134	136	137	138	139	90	90	91	91	92	93	93

* The 90th percentile is 1.28 SD, the 95th percentile is 1.645 SD, and the 99th percentile is 2.326 SD over the mean. For research purposes, the SDs in Table B1 allow one to compute BP Z scores and percentiles for girls with height percentiles given in Table 4 (ie, the 5th, 10th, 25th, 50th, 75th, 90th, and 95th percentiles). These height percentiles must be converted to height Z scores given by: 5% = -1.645; 10% = -1.28; 25% = -0.68; 50% = 0; 75% = 0.68; 90% = 1.28; and 95% = 1.645 and then computed according to the methodology in steps 2 through 4 described in Appendix B. For children with height percentiles other than these, follow steps 1 through 4 as described in Appendix B.

Anexo 4

Percentilas de niveles séricos de triglicéridos en mujeres de acuerdo a la edad

TABLE II-5. *Plasma Triglyceride (mg/dl) for White Females Not Taking Sex Hormones—Lipid Research Clinics LRC Program Prevalence Study, Visit 1*

Age (years)	n	Mean	SD	Percentiles				
				5	10	50	90	95
0-4	186	63.9	24.3	34	38	59	96	112
5-9	1118	60.3	25.3	32	36	55	90	105
10-14	2080	75.4	30.9	37	44	70	114	131
15-19	1911	72.4	32.5	39	44	66	107	124
20-24	778	72.4	35.3	36	41	64	112	131
25-29	1329	74.7	37.0	37	42	65	116	144
30-34	1569	78.5	40.1	39	44	69	123	150
35-39	1606	86.2	49.0	40	46	73	137	176
40-44	1583	98.4	82.0	45	51	81	155	191
45-49	1515	104.5	69.5	46	53	87	170	214
50-54	1257	114.8	69.6	52	59	97	186	233
55-59	1112	125.0	76.7	55	63	106	203	262
60-64	723	126.9	88.5	56	64	105	202	239
65-69	593	131.3	110.1	60	66	112	204	243
70-74	411	133.8	112.1	60	69	113	205	231
75-79	207	127.9	101.0	57	69	106	195	242
80+	130	135.2	103.8	60	70	112	211	242
Total	18,108							



**“RELACION DE LOS NIVELES DE LEPTINA Y FACTORES
CARDIOMETABOLICOS EN NIÑAS CON PUBERTAD
PRECOZ CENTRAL”**



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

México D.F. a _____ del mes _____ del año _____.

Responsables del estudio:

Dr. Miguel Angel Villasis Keever

Dra. Elisa Nishimura Meguro

Dra. Jessie Nallely Zurita Cruz

Propósito del estudio:

Los estamos invitando a participar en un estudio de investigación que se lleva a cabo en el Servicio de Endocrinología del Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI con registro R-2012-3603-83, porque su hija tiene el diagnóstico pubertad precoz central idiopática. Como le ha comentado su médico tratante, esta enfermedad consiste en el crecimiento de los senos y la aparición de vello púbico (es decir, vello en el área genital) antes de la edad que normalmente ocurren estos cambios.

Les comentamos que este estudio tiene como objetivo conocer si las pacientes como su hija, tienen mayor frecuencia de obesidad, del aumento de la presión arterial, o bien, de la elevación del azúcar o grasas en sangre, de leptina (una sustancia relacionada con el hambre y la grasa que está en el cuerpo) durante los 12 primeros meses de haberse hecho el diagnóstico.

Para lograr los objetivos de este estudio, participarán al igual que su hija otras 36 niñas con pubertad precoz central.

La participación de su hija es completamente voluntaria, por lo antes de decidir si desean o no participar, les pedimos que lean la información que le proporcionamos a continuación, y si así lo desean pueden hacer las preguntas que Uds. Consideren necesarias.

Procedimientos:

El estudio tiene una duración de 12 meses, periodo durante el cual será necesario que su hija acuda una vez cada seis meses, para un total de tres evaluaciones. Cada una de estas evaluaciones ocurrirá, en la mayoría de las ocasiones, en el momento que Uds. acudan a la consulta externa del servicio de Endocrinología como parte del tratamiento que se les está otorgando.

En cada una de las tres evaluaciones, la participación de su hija consistirá en la medición de su peso, estatura, así como en la toma de una muestra de sangre de 3 mililitros (lo cual corresponde a un poco más de media cucharadita).

Posibles riesgos y molestias

Por la participación en el estudio, el único riesgo es por la toma de la muestra de sangre. Su hija seguramente tendrá dolor al momento del piquete para su toma de sangre y es posible que después presente un moretón. Sin embargo, le aseguramos que la persona que tomará la muestra de sangre tiene amplia experiencia para disminuir al máximo las molestias.

Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio

Por la participación en el estudio Uds. no recibirán algún pago, pero tampoco implica gasto para Uds. Si bien es posible que no haya algún beneficio directo para su hija, en caso de detectar alteraciones en los estudios realizados, la información será enviada a sus médicos tratantes de Endocrinología, quien decidirá cuál será el seguimiento en este caso.

Los resultados contribuirán al avance en el conocimiento de la frecuencia de obesidad, alteración en la grasa de la sangre y la presión arterial de pacientes con pubertad precoz central en los 12 primeros meses del diagnóstico.

Participación o retiro

La participación de su hija en este estudio es completamente voluntaria. Si ustedes deciden no participar, le aseguramos que tanto su hija como Uds. seguirán recibiendo la atención médica brindada en el hospital y en el IMSS.

Ahora bien, si en un principio Uds. aceptan que su hija participe, y posteriormente cambian de opinión, pueden abandonar el estudio en cualquier otro momento. En este caso, tampoco habrá cambios en los beneficios que ustedes y su familiar tienen como derechohabientes del IMSS.

Privacidad y confidencialidad

La información que nos proporcionen que pudiera ser utilizadas para identificar a su hija (como su nombre, teléfono y dirección) serán guardadas de manera confidencial y por separado al igual que sus respuestas a los cuestionarios y los resultados de sus pruebas clínicas, para garantizar su privacidad y la de su hija.

Para resguardar la confidencialidad de los datos le asignaremos un número que utilizaremos para identificar sus datos, y usaremos ese número en lugar de su nombre en nuestras bases de datos.

El equipo de investigadores, su médico en el Servicio de Endocrinología Pediátrica y los médicos que se encuentren involucradas en el cuidado de su salud sabrán que su hija está participando en este estudio. Sin embargo, nadie más tendrá acceso a la información que ustedes nos proporcionen durante su participación en este estudio, al menos que ustedes así lo deseen.

Cuando los resultados de este estudio sean publicados o presentados en conferencias, por ejemplo, no se dará información que pudiera revelar la identidad de su hija. La identidad de su hija será protegida y ocultada.

Personal de contacto para dudas y aclaraciones sobre el estudio.

Si tiene preguntas o quiere hablar con alguien sobre este estudio de investigación puede comunicarse de 8:00 a 14:00 hrs, de lunes a viernes con el Dr. Miguel Angel Villasis Keever,

Dra. Elisa Nishimura Meguro y Dra. Jessie Nallely Zurita Cruz Teléfono: 56276900 ext. 22292.

Declaración de consentimiento informado

Declaramos que se nos ha informado y explicado con claridad las dudas, además he leído (o alguien me ha leído) el contenido de este formato de consentimiento. Los investigadores se han comprometido a brindarnos la información sobre los resultados obtenidos, y en caso de encontrarse alguna alteración, se le informará a mi médico tratante.

Se me comentó que puedo plantear las dudas que surjan acerca de mi intervención en cualquier momento, para lo cual me proporcionaron los nombres y números telefónicos de los investigadores. Entendiendo que conservamos el derecho decidir no continuar con el estudio en cualquier momento, sin que ello afecte la atención médica que recibe mi hija, nosotros o el resto de nuestra familia por parte en el Instituto.

Al firmar este consentimiento, estamos de acuerdo en participar en la investigación.

Nombre y Firma del Padre de la Participante

Nombre y Firma de la Madre de la Participante

Firma del encargado de obtener el consentimiento informado

Le he explicado el estudio de investigación al participante y he contestado todas sus preguntas. Considero que comprendió la información descrita en este documento y libremente da su consentimiento a participar en este estudio de investigación.

Nombre y Firma del encargado de obtener el consentimiento informado

Firma de los testigos

Mi firma como testigo certifica que la madre y el padre de la participante firmó este formato de consentimiento informado en mi presencia, de manera voluntaria.

Nombre y Firma del Testigo 1

Parentesco con participante

Nombre y Firma del Testigo 2

Parentesco con participante



**“RELACION DE LOS NIVELES DE LEPTINA Y FACTORES
CARDIOMETABOLICOS EN NIÑAS CON PUBERTAD
PRECOZ CENTRAL”**



CARTA DE ASENTIMIENTO PARA NIÑAS MAYORES DE 8 AÑOS

México D.F. a _____ del mes _____ del año _____.

En este estudio queremos ver si hay cambios en tu peso, alteraciones en las grasas tu sangre y de otra sustancia que se relaciona con el hambre y la grasa que tenemos en el cuerpo durante los siguientes 12 meses.

Si quieres participar, vas a venir con alguno de tus papás al Hospital de Pediatría de Centro Médico Nacional S XXI. En la primera cita, la Dra. Jessie Nallely Zurita Cruz te picará con una aguja en una vena de tu brazo para la toma de 3 mililitros de sangre (una cucharadita), este piquete puede ocasionar un poco de dolor y/o un moretón; también te pesara en una bascula especial y te medirá la cintura y tu altura.

Después cada 6 meses te tomaran estudios por tu enfermedad, y en ese momento la Dra. Jessie Nallely Zurita Cruz también te pesara en una bascula especial y te medirá la cintura y tu altura.

Ninguna persona podrá ver los resultados de tus estudios a menos que tú o tu papá así lo quieran.

Tus papás están enterados de este estudio y se les ha pedido que firmen otra carta. Si no quieres participar, no te preocupes, no pasa nada, no habrá cambios en las consultas y estudios que recibes en este hospital.

Nombre: _____

Anexo 7

Técnica en la toma de talla

Material requerido: Estadímetro

1. Lavado de manos antes y después del procedimiento.
2. Pedirle al paciente que se retire los zapatos y cualquier objeto que se encuentre en el cabello que pueda sesgar la medición de la talla y que permanezca de pie con la punta de los pies ligeramente separados y con los talones juntos y apoyados en el tope posterior del estadiómetro; la cadera; escapula y cabeza pegadas al estadiómetro.
3. Pedirle que inhale profundamente que contenga el aire manteniendo una postura erecta y se toma la medición.
4. Mantener la cabeza en el plano de Frankfurt y se realiza una tracción de la cabeza a nivel de las apófisis mastoides.
5. Se desciende lentamente la plataforma horizontal del estadiómetro hasta contactar con la cabeza del paciente.
6. Se obtendrá la talla máxima y se ajustará al centímetro más próximo.
7. Esta maniobra se repetirá en 2 ocasiones más y el resultado será el promedio de las 3 mediciones

Técnica en la toma de peso

Material: Báscula marca TANITA BC- 568 analizador segmental

1. Lavado de manos antes y después del procedimiento
2. Verificar que la báscula este calibrada
3. Se debe de tomar con la vejiga vacía y en ayuno
4. Con el paciente en el centro de la plataforma de báscula distribuyendo el peso por igual en ambas piernas, sin que el cuerpo este en contacto con nada que haya alrededor y con los brazos colgando libremente a ambos lados del cuerpo.
5. La medida se realiza con el paciente en bata clínica, sin zapatos

Técnica en la toma de bioimpedancia electrica

Material: Báscula marca TANITA BC- 568 analizador segmental

1. Lavado de manos antes y después del procedimiento
2. Verificar que la báscula este calibrada
3. Se debe de tomar con la vejiga vacía y en ayuno
4. Con el paciente en el centro de la plataforma de báscula distribuyendo el peso por igual en ambas piernas, sin que el cuerpo este en contacto con nada que haya alrededor y con los brazos colgando libremente tomando los electrodos del equipo de bioimpedancia con cada mano.

La medida se realiza con el paciente en bata clínica, sin zapatos ni calcetines, para que los pies tengan contacto directo con 2 barras metálicas colocadas en la base del equipo

Técnica en la toma del perímetro de cintura

Material requerido: cinta métrica marca SECA

1. Lavado de manos antes y después del procedimiento.
2. Pedirle al paciente que se retire los zapatos y que permanezca de pie con la punta de los pies ligeramente separados y con los talones juntos.
3. Se identifica la protuberancia de la cresta iliaca y de la ultima costilla en la línea media axilar, y se traza una línea imaginaria y en la parte media de dicha línea

se coloca una referencia (un punto colocado con un marcador de tinta lavable) de ambos lados de la línea media axilar para tomarlo como referencia para colocar la cinta métrica.

4. Se coloca la cinta métrica en la circunferencia, verificando que no este mal colocada y atraviese los 2 puntos de referencia antes marcados
5. Pedirle al paciente que no inhale ni exhale profundamente y se toma la medición.
6. Esta maniobra se repetirá en 2 ocasiones más y el resultado será el promedio de las 3 mediciones
7. Con una torunda con alcohol se retira la marca colocada con el plumon

Técnica en la toma de tensión arterial sistémica

Material: Esfingomanometro con manguito de acuerdo a la edad

1. Descubrir antebrazo del paciente
2. Que el paciente permanezca sentado, apoyando el antebrazo flexionado en una zona rígida a la altura del corazón y que mantenga reposo por lo menos por 5 minutos antes de la toma de la presión arterial
3. El ancho del brazalete cubrirá el 40% de la longitud del brazo y la cámara de aire del interior del brazalete tendrá una longitud que cubra el 80% de la circunferencia
4. El observador se acomodara de tal forma que logre ver la columna de mercurio en forma directa y corroborando que la columna de mercurio se encuentre en 0 mmHg
5. Al colocar el brazalete debe corroborar que el manguito se localice en la arteria humeral
6. Se localiza el pulso de arteria radial y se insufla el manguito hasta no sentir la pulsación de la arterial humeral; y se identifica a que nivel de mmHg presento la ausencia de la pulsación.
7. Se vuelve a insuflar el maguito 20mmHg por arriba de la cifra identificada como la presión que condiciona ausencia de la pulsación de la arteria radial se coloca la campana del estetoscopio en región de la arterial humeral, sin ser esta obstruida por el brazalete.
8. Se desinflará el maguito a una velocidad de 2mmHg por segundo y se identificara los ruidos de Korotkoff
9. Esta maniobra se repetirá en 2 ocasiones más con un intervalo de 5 minutos entre cada una y el resultado será el promedio de las 3 mediciones
10. Marcara la sistólica al primer ruido de Korotkoff como sistólica y el último como diastólico y comparación con tablas de normalidad de la Task Force

Anexo 8 Cuestionario para evaluar actividad física en escolares

Puntaje de actividad física

I Acostado (h/día) ¹		Puntos		
a) Durmiendo de noche	_____		<8 h	= 2
b) Siesta en el día	+ _____ = _____	<input type="checkbox"/>	8-12 h	= 1
			>12 h	= 0
II Sentado (hrs/día) ¹				
a) En clase	_____			
b) Tareas escolares, leer, dibujar	+ _____			
c) En comidas	+ _____		<6 h	= 2
d) En auto o transporte	+ _____		6-10 h	= 1
e) TV+PC+ Video juegos	+ _____ = _____	<input type="checkbox"/>	>10 h	= 0
III Caminando (cuadras/día) ¹				
Hacia o desde el colegio o a cualquier lugar rutinario		_____	<input type="checkbox"/>	>15 cdas = 2
				5-15 cdas = 1
				<5 cdas = 0
IV Juegos al aire libre (min/día) ¹				
Bicicleta, pelota, correr etc.		_____	<input type="checkbox"/>	>60 min = 2
				30-60 min = 1
				<30 min = 0
V Ejercicio o deporte programado (h/sem)				
a) Educación física		_____	<input type="checkbox"/>	>4 h = 2
b) Deportes programados				2-4 h = 1
				<2 h = 0
Puntaje total de AF			<input type="checkbox"/>	

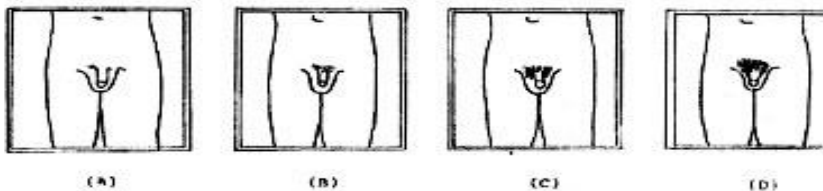
¹Si la actividad no se realiza cada día de la semana (lunes a viernes), la suma de la semana se dividió por 5.

Anexo 9

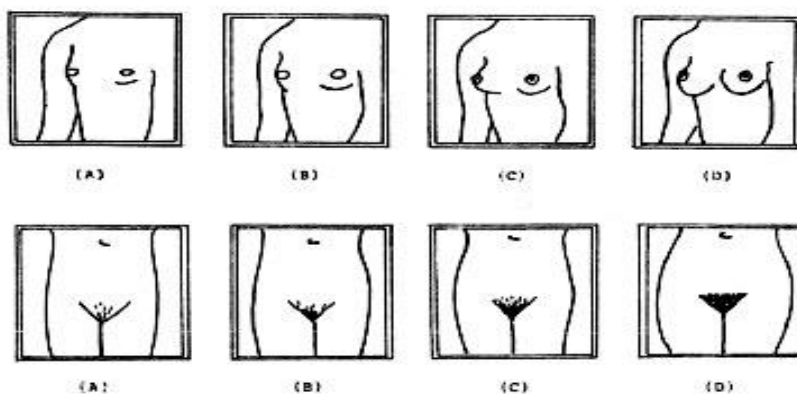
CUADRO 1

Dibujos sobre los estadios de Tanner empleados para evaluar el desarrollo puberal.

11.-Observa con cuidado las siguientes figuras de niño. Como puedes ver cada una tiene una letra. Escoge aquella figura (sólo una) que refleje más tu desarrollo actual marcando con una cruz (X) la letra correspondiente.



11.-Observa con cuidado las siguientes figuras de niña. Como puedes ver cada una tiene una letra. Escoge aquella figura (sólo una) que refleje más tu desarrollo actual marcando con una cruz (X) la letra correspondiente.



Anexo 10

CODIGO DE SUJETO | | | | - | | | |

Fecha de elaboración | | | | | | | |

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS FACTORES DE RIESGO CARDIOMETABOLICO EN PACIENTES CON PUBERTAD PRECOZ

Edad Cronológica	Edad osea		
Relacion EC/EO			
DETERMINACIÓN DE HORMONALES			
Basal LH FSH Estadiol	Postestimulacion LH FSH Estadiol		
¿Tiene alguna otra enfermedad? Si No ¿Cuál?			
Peso al nacimiento grs			
Madre alteración metabólica No Si Sobrepeso Obesidad DM2 HAS			
Padre alteración metabólica No Si Sobrepeso Obesidad DM2 HAS			

12 MESES Tanner Mamario y Pubico 			
DOSIS LEUPÓLIDE mg días	Peso: kg Talla: cm IMC: SZ PC Perimetro cintura PC:	Grasa total % Grasa visceral kg M. Muscular kg Esqueleto kg	
		TA sistólica mmHg diastólica mmHg	
Colesterol total mg/dl	Colesterol HDL mg/dl	ALTERADO	
Colesterol LDL mg/dl	Colesterol VLDL mg/dl	Si No	Si No
Trigliceridos mg/dl	Glucosa mg/dl	Si No	Si No
Leptina mg/dl	Insulina mg/dl	Si No	Si No
PCR ultrasensible mg/dl	HOMA 	Si No	Si No
Sedentarismo puntos		Si No	Si No

18 meses Tanner Mamario y Pubico 			
DOSIS LEUPÓLIDE mg días	Peso: kg Talla: cm IMC: SZ PC Perimetro cintura PC:	Grasa total % Grasa visceral kg M. Muscular kg Esqueleto kg	
		TA sistólica mmHg diastólica mmHg	
Colesterol total mg/dl	Colesterol HDL mg/dl	ALTERADO	
Colesterol LDL mg/dl	Colesterol VLDL mg/dl	Si No	Si No
Trigliceridos mg/dl	Glucosa mg/dl	Si No	Si No
Leptina mg/dl	Insulina mg/dl	Si No	Si No
PCR ultrasensible mg/dl	HOMA 	Si No	Si No
Sedentarismo puntos		Si No	Si No

6 MESES Tanner Mamario y Pubico 			
DOSIS LEUPÓLIDE mg días	Peso: kg Talla: cm IMC: SZ PC Perimetro cintura PC:	Grasa total % Grasa visceral kg M. Muscular kg Esqueleto kg	
		TA sistólica mmHg diastólica mmHg	
Colesterol total mg/dl	Colesterol HDL mg/dl	ALTERADO	
Colesterol LDL mg/dl	Colesterol VLDL mg/dl	Si No	Si No
Trigliceridos mg/dl	Glucosa mg/dl	Si No	Si No
Leptina mg/dl	Insulina mg/dl	Si No	Si No
PCR ultrasensible mg/dl	HOMA 	Si No	Si No
Sedentarismo puntos		Si No	Si No

24 meses Tanner Mamario y Pubico 			
DOSIS LEUPÓLIDE mg días	Peso: kg Talla: cm IMC: SZ PC Perimetro cintura PC:	Grasa total % Grasa visceral kg M. Muscular kg Esqueleto kg	
		TA sistólica mmHg diastólica mmHg	
Colesterol total mg/dl	Colesterol HDL mg/dl	ALTERADO	
Colesterol LDL mg/dl	Colesterol VLDL mg/dl	Si No	Si No
Trigliceridos mg/dl	Glucosa mg/dl	Si No	Si No
Leptina mg/dl	Insulina mg/dl	Si No	Si No
PCR ultrasensible mg/dl	HOMA 	Si No	Si No
Sedentarismo puntos		Si No	Si No

Anexo 11

human Leptin

Catalog Number: DY398

This DuoSet ELISA Development kit contains the basic components required for the development of sandwich ELISAs to measure natural and recombinant human Leptin. DuoSets are designed for the analysis of cell culture supernates. Other sample types, such as serum and plasma, need to be validated prior to use in this DuoSet.¹ Each kit contains sufficient materials to run ELISAs on approximately fifteen 96-well plates, provided that the following conditions are met:²

- The assay is run as summarized in the General ELISA protocol.
- The recommended microplates, buffers, diluents, substrates, and solutions are used.

This package insert must be read in its entirety before using this product.

SPECIFICITY

The following factors prepared at 50 ng/mL were assayed and exhibited no cross-reactivity or interference.

Recombinant mouse:	Recombinant rat:
Leptin	Leptin

Recombinant human Leptin R/Fc Chimera does not cross-react in this assay but does interfere at concentrations greater than 1562.5 pg/mL.

CALIBRATION

This DuoSet is calibrated against a highly purified *E. coli*-expressed recombinant human Leptin produced at R&D Systems.

MATERIALS PROVIDED

Bring all reagents to room temperature before use.

Capture Antibody (Part 840279, 1 vial) - 720 µg/mL of mouse anti-human Leptin when reconstituted with 1.0 mL of PBS. After reconstitution, store at 2-8° C for up to 60 days or aliquot and store at -20° C to -70° C in a manual defrost freezer for up to 6 months.³ Dilute to a working concentration of 4.0 µg/mL in PBS,⁴ without carrier protein.

Detection Antibody (Part 840280, 1 vial) - 4.5 µg/mL of biotinylated mouse anti-human Leptin when reconstituted with 1.0 mL of Reagent Diluent (see Solutions Required section). After reconstitution, store at 2-8° C for up to 60 days or aliquot and store at -20° C to -70° C in a manual defrost freezer for up to 6 months.³ Dilute to a working concentration of 25 ng/mL in Reagent Diluent.⁴

Standard (Part 840281, 1 vial) - 90 ng/mL of recombinant human Leptin when reconstituted with 0.5 mL of distilled or deionized water. Allow the standard to sit for a minimum of 15 minutes with gentle agitation prior to making dilutions. Store reconstituted standard at 2-8° C for up to 60 days or aliquot and store at -70° C for up to 6 months.³ A seven point standard curve using 2-fold serial dilutions in Reagent Diluent, and a high standard of 2000 pg/mL is recommended.

Streptavidin-HRP (Part 890803, 2 vials) - Each vial contains 1.0 mL of streptavidin conjugated to horseradish-peroxidase. Store at 2-8° C for up to 6 months after initial use.³ **DO NOT FREEZE.** Dilute to the working concentration specified on the vial label using Reagent Diluent (see Solutions Required section).⁴

SOLUTIONS REQUIRED

PBS - 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 8.1 mM Na₂HPO₄, 1.5 mM KH₂PO₄, pH 7.2-7.4, 0.2 µm filtered.

Wash Buffer - 0.05% Tween® 20 in PBS, pH 7.2-7.4 (R&D Systems Catalog # WA126).

Reagent Diluent¹ - 1% BSA⁵ in PBS, pH 7.2-7.4, 0.2 µm filtered (R&D Systems Catalog # DY995).

Quality of BSA is critical (see Technical Hints).

Substrate Solution - 1:1 mixture of Color Reagent A (H₂O₂) and Color Reagent B (Tetramethylbenzidine) (R&D Systems Catalog # DY999).

Stop Solution - 2 N H₂SO₄ (R&D Systems Catalog # DY994).

TECHNICAL HINTS AND LIMITATIONS

- The use of high quality Bovine Serum Albumin (BSA) for the Reagent Diluent is crucial for the optimum performance of the DuoSet ELISA Development kit. Impurities such as proteases, binding proteins, soluble receptors or other interfering substances can be found to varying degrees in virtually all BSA preparations and can inhibit or interfere with the detection of certain analytes. If the standard curve appears suppressed, consider evaluating a different preparation of BSA.
- We recommend the use of R&D Systems' Reagent Diluent (Catalog # DY995) or the use of Millipore Bovine Serum Albumin, Fraction V, Protease free (Catalog # 82-045), to prepare your own Reagent Diluent.
- This DuoSet should not be used beyond the expiration date on the label.
- It is important that the diluents selected for reconstitution and for dilution of the standard reflect the environment of the samples being measured. The diluent suggested in this protocol should be suitable for most cell culture supernate samples. Validate diluents for specific sample types prior to use.
- The type of enzyme and substrate and the concentrations of capture/detection antibodies used can be varied to create an immunoassay with a different sensitivity and dynamic range. A basic understanding of immunoassay development is required for the successful use of these reagents in immunoassays.
- A thorough and consistent wash technique is essential for proper assay performance. Wash Buffer should be dispensed forcefully and removed completely from the wells by aspiration or decanting. Remove any remaining Wash Buffer by inverting the plate and blotting it against clean paper towels.
- Use a fresh reagent reservoir and pipette tips for each step.
- It is recommended that all standards and samples be assayed in duplicate.
- Avoid microbial contamination of reagents and buffers. This may interfere with the sensitivity of the assay. Buffers containing a large quantity of protein should be made under sterile conditions and stored at 2-8° C or be prepared fresh daily.

BIBLIOGRAFIA

- ¹Shankar R, Pescovitz O. Precocious puberty. *Adv Endocrinol Metab* 1995;6: 55–89.
- ²Kaplowitz P, Oberfield S, The Drug and Therapeutics and Executive Committees of the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society. Reexamination of the age limit for defining when puberty is precocious in girls in the United States: implications for evaluation and treatment. *Pediatrics* 1999;104:936–941.
- ³Wheeler M. Physical changes of puberty. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1991;29:1–14.
- ⁴ Sorensen K, Mouritsen A, Aksglaede L. et al. Recent secular trends in pubertal timing: Implications for evaluation and diagnosis of precocious puberty. *Horm Res Paediatr* 2012;77:137–145
- ⁵Gonzalez E: For puberty that comes too soon, new treatment highly effective. *JAMA* 1982;248:1149–1152.
- ⁶Cutler G, Precocious puberty. *Medicine for the Practicing Physician*. En: Woburn, Butterworth 1988:526–530.
- ⁷ Sociedad española de Endocrinología Pediátrica (fecha de acceso 28-10-2012). Disponible en www.seep.es/pubere
- ⁸Grumbach M, Styne D. Puberty: ontogeneity, neuroendocrinology, physiology and disorders. En: Wilson J, Foster D, Kronenberg H, Larsen P, eds. *Williams textbook of endocrinology*. 9th ed. Philadelphia: W. B. Saunders Co. Publishing; 1998:1509–1625.
- ⁹ Carel J, Lahlou N, Roger M, Chaussain J. Precocious puberty and statural growth. *Hum Reprod Update*. 2004;10(2):135-47
- ¹⁰Weichold K, Silbereisen R, Schmitt-Rodermund E. Shortand long-term consequences of early versus late physical maturation in adolescents. En: Hayward C, ed. *Puberty and Psychopathology*. Cambridge, MA: Cambridge University Press; 2003:241–276
- ¹¹ Downing J, Bellis M. Early pubertal onset and its relationship with sexual risk taking, substance use and anti-social behaviour: a preliminary cross-sectional study. *BMC Public Health* 2009;3:446.
- ¹²Kletter G, Kelch R. Clinical review 60: effects of gonadotrophin releasing hormone analog therapy on adult stature in precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:331–334.
- ¹³Bar A, Linder B, Sobel E, et al. Bayley-Pinneau method of height prediction in girls with central precocious puberty: correlation with adult height. *J Pediatr* 1995;126:955–8.
- ¹⁴Carel J, Eugster E, Rogol A, et al. Consensus Statement on the use of Gonadotropin-releasing Hormone analogs in children. *Pediatrics* 2009;123:e752-e762.
- ¹⁵ Auchus R, Rainey W. Adrenarche—physiology, biochemistry and human disease. *Clin Endocrinol* 2004;60:288–296.
- ¹⁶Idkowiak J, Lavery G, Dhir V, et al. Premature adrenarche: novel lessons from early onset androgen Excess. *Eur J Endocrinology* 2011;165 :189–207

-
- ¹⁷Herman-Giddens M, Slora E, Wasserman R, et al. Secondary sexual characteristics and menses in young girls seen in office practice: a study from the Pediatric Research in Office Settings network. *Pediatrics* 1997;99:505–12.
- ¹⁸Berberoglu M. Precocious puberty and normal variant puberty: Definition, etiology, diagnosis and current management. *J Clin Res Ped Endo* 2009;1:164-174.
- ¹⁹ Auchus R, Rainey W. Adrenarche—physiology, biochemistry and human disease. *Clinical Endocrinology* 2004 60 288–296.
- ²⁰ Ibañez L, Jimenez R, de Zegher F. Early puberty-menarche after precocious pubarche: relation to prenatal growth. *Pediatrics* 2006;117:117–121
- ²¹ Ibañez L, Potau N, Zampolli M, Rique S, Saenger P, Carrascosa A. Hyperinsulinemia and decreased insulin-like growth factor binding protein-1 are common features in prepubertal and pubertal girls with a history of premature pubarche. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2283–2288
- ²² Ibañez L, Ong K, de Zegher F, Marcos MV, del Rio L, Dunger D. Fat distribution in non-obese girls with and without precocious pubarche: central adiposity related to insulinemia and androgenemia from pre-puberty to postmenarche. *Clin Endocrinol* 2003;58:372–379
- ²³ Lee P. Central precocious puberty: an overview of diagnosis, treatment, and outcome. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1999; 28:901–918
- ²⁴ Neely E, Wilson D, Lee P, et al. Spontaneous serum gonadotropin concentrations in the evaluation of precocious puberty. *J Pediatr.* 1995;127:47–52
- ²⁵ Brito V, Batista M, Borges M, et al Diagnostic value of fluorometric assays in the evaluation of precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84: 3539–3544
- ²⁶ Kappy M, Stuart T, Perelman M. Efficacy of leuprolide therapy in children with central precocious puberty. *Am J Dis Child.*1988;142:1061–1064
- ²⁷Kandemir N, Demirbilek H, Alev Ozon Z, Alikafifo N. GnRH stimulation test in precocious puberty: single sample is adequate for diagnosis and dose adjustment *J Clin Res Ped Endo* 2011;3:12-17
- ²⁸Resende E, Lara B, Reis J, et al. Assessment of basal and gonadotropin-releasing hormone-stimulated gonadotropins by immunochemiluminometric and immunofluorometric assays in normal children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:1424–1429
- ²⁹ Roger M, Lahlou N, Chaussain J. Gonadotropin-releasing hormone testing in pediatrics. En: Ranke M, ed. *Diagnostics of endocrine function in children and adolescents.* Heidelberg, Germany: Johann Ambrosius Barth; 1996:346–369
- ³⁰ Antoniazzi F, Zamboni G. Central precocious puberty: current treatment options. *Paediatr Drugs.* 2004;6:211–231
- ³¹ Crowley WF Jr, Comite F, Vale W, et al. Therapeutic use of pituitary desensitization with a long-acting LHRh agonist: a potential new treatment for idiopathic precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab.* 1981; 52:370–372
- ³² Tuvemo T, Gustafsson J, Proos L. Suppression of puberty in girls with short-acting intranasal versus subcutaneous depot GnRH agonist. *Horm Res* 2002;57:27–31

-
- ³³ Partsch C, Sippell W. Treatment of central precocious puberty. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2002;16:165–189
- ³⁴ Paterson W, McNeill E, Young D, et al. Auxological outcome and time to menarche following long-acting goserelin therapy in girls with central precocious or early puberty. *Clin Endocrinol* 2004;61:626–634
- ³⁵ Brito V, Latronico C, Arnhold J, et al. A single luteinizing hormone determination 2 hours after depot leuprolide is useful for therapy monitoring of gonadotropin-dependent precocious puberty in girls. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:4338-4342.
- ³⁶ Carel J, Lahlou N, Jaramillo O, et al. Treatment of central precocious puberty by subcutaneous injections of leuprorelin 3-month depot (11.25 mg). *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:4111–4116.
- ³⁷ Fuld K, Chi C, Neely E. A randomized trial of 1- and 3-month depot leuprolide doses in the treatment of central precocious puberty. *J Pediatr.* 2011;159:982-987
- ³⁸ Lee P, Klein K, Mauras N, et al. Efficacy and safety of leuprolide acetate 3-month depot 11.25 milligrams or 30 milligrams for the treatment of central precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:1572–1580.
- ³⁹ 41. Mericq V, Lammoglia J, Unanue N, et al. Comparison of three doses of leuprolide acetate in the treatment of central precocious puberty: preliminary results. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2009;71:686–690.
- ⁴⁰ Badaru A, Wilson DM, Bachrach LK, et al. Sequential comparisons of one-month and three-month depot leuprolide regimens in central precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:1862–1867.
- ⁴¹ Carel J, Roger M, Ispas S, et al. Final height after long-term treatment with triptorelin slow-release for central precocious puberty: importance of statural growth after interruption of treatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:1973–1978
- ⁴² Weiss R, Dziura J, Burgert S, et al. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med.* 2004;350:2362–2374
- ⁴³ Juonala M, Järvisalo M, Mäki-Torkko N, et al. Risk factors identified in childhood and decreased carotid artery elasticity in adulthood: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Circulation.* 2005;112:1486 –1493.
- ⁴⁴ Steinberger J, Daniels S. Obesity, insulin resistance, diabetes and cardiovascular risk in children: an American Heart Association scientific statement from the Atherosclerosis, Hypertension, and Obesity in the Young Committee (Council on Cardiovascular Disease in the Young) and the Diabetes Committee (Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism). *Circulation* 2003;107:1448 –1453.
- ⁴⁵ Ten S, Maclaren N. Insulin resistance syndrome in children. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2526–2539
- ⁴⁶ Huang T, Nansel T, Belsheim A, et al. Sensitivity, specificity, and predictive values of pediatric metabolic syndrome components in relation to adult metabolic syndrome: the Princeton LRC follow-up study. *J Pediatr* 2008;152:185–190.
- ⁴⁷ de Ferranti S, Gauvreau K, Ludwig D, et al.. Prevalence of the metabolic syndrome in American adolescents: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Circulation.* 2004;110:2494 –2497.

-
- ⁴⁸ Cruz M, Goran M. The metabolic syndrome in children and adolescents. *Curr Diab Rep.* 2004;4:53-62
- ⁴⁹ Cook S, Weitzman M, Auinger P, Nguyen M, Dietz W. Prevalence of a metabolic syndrome phenotype in adolescents: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2003;157:821-827
- ⁵⁰ Lambert M, Paradis G, O'Loughlin J, Delvin E, Hanley J, et al. Insulin resistance syndrome in a representative sample of children and adolescents from Quebec, Canada. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2004;30:2362-2374
- ⁵¹ Weiss R. Metabolic syndrome in childhood-causes and effects. *Endocr Dev* 2010;19:62-72.
- ⁵² Lee J, Davis M, Woolford S, et al. Waist circumference percentile thresholds for identifying adolescents with insulin resistance in clinical practice. *Pediatr Diabetes* 2009;10:336-342.
- ⁵³ Jaffrin M, Morel H. Body fluid volumes measurements by impedance: A review of bioimpedance spectroscopy (BIS) and bioimpedance analysis (BIA) methods. *Med Eng Phys.* 2008;30:1257-69.
- ⁵⁴ Malecki M. Genetics of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* 2005;68:S10-21.
- ⁵⁵ Malecki M, Klupa T. Type 2 diabetes mellitus: from genes to disease. *Pharmacol Rep.* 2005;57:S20-32
- ⁵⁶ Collins G, Mallett S, Omar O, et al. Developing risk prediction models for type 2 diabetes: a systematic review of methodology and reporting. *BMC Med.* 2011;9:103.
- ⁵⁷ Buijsse B, Simmons R, Griffin S, et al. Risk assessment tools for identifying individuals at risk of developing type 2 diabetes. *Epidemiol Rev.* 2011;33:46-62
- ⁵⁸ Iijima K, Iimuro S, Ohashi Y, et al. Japanese Elderly Diabetes Intervention Trial Study Group. Lower physical activity, but not excessive calorie intake, is associated with metabolic syndrome in elderly with type 2 diabetes mellitus: the Japanese Elderly Diabetes Intervention Trial. *Geriatr Gerontol Int.* 2012;1:S68-76.
- ⁵⁹ Eyzaguirre F, Bancalari R, Román R, et al. Prevalence of components of the metabolic syndrome according to birthweight among overweight and obese children and adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2012;25:51-6
- ⁶⁰ Strong W, Malina R, Blimkie C, et al. Evidence based physical activity for school-age youth. *J Pediatr* 2005; 146:732-7.
- ⁶¹ Baptista C. Leptina (Leptin). *Acta Pediatr Port* 2002;15:281–285.
- ⁶² Moran O, Phillip M. Leptin: obesity, diabetes and other peripheral effects – a review. *Pediatr Diabetes* 2003; 4:101–109.
- ⁶³ Steinberger J, Steffen L, Jacobs D, et al. Relation of leptin to insulin resistance syndrome in children. *Obes Res* 2003;11:1124–1130.
- ⁶⁴ Pilcova R, Sulcova J, Hill M, et al. Leptin levels in obese children: effects of gender, weight reduction and androgens. *Physiol Res* 2003;52:53–60.

-
- ⁶⁵ Johnson M, Huang T, Figueroa-Colon R, et al. Influence of leptin on changes in body fat during growth in African American and white children. *Obes Res* 2001;9:593–598.
- ⁶⁶ Wang T, Morioka I, Gowa Y, et al. Serum Leptin Levels in Healthy Adolescents: Effects of Gender and Growth. *Environ. Health Prev. Med* 2004;9:41-46
- ⁶⁷ Antunes H, Santos C, Carvalho S. Serum leptin levels in overweight children and adolescents. *BJN* 2009;101:1262–1266
- ⁶⁸ Bouvattier C, Lahlou N, Roger M, et al. Hyperleptinemia is associated with impaired gonadotrophin response to GnRH late puberty in obese girls, not boys. *Eur J Endocrinology* 1998;138:653-658
- ⁶⁹ Laron Z. Is obesity associated with early sexual maturation? *Pediatrics* 2004;113:171–172
- ⁷⁰ Wang Y. Is obesity associated with early sexual maturation? A comparison of the association in American boys versus girls. *Pediatrics* 2002;110:903–910
- ⁷¹ Vizmanos B, Martí-Henneberg C. Puberty begins with a characteristic subcutaneous body fat mass in each sex. *Eur J Clin Nutr* 2000;54:203–208
- ⁷² He Q, Karlberg J. BMI in childhood and its association with height gain, timing of puberty, and final height. *Pediatr Res* 2001;49:244–251
- ⁷³ Ribeiro J, Santos P, Duarte J, Mota J Association between overweight and early sexual maturation in Portuguese boys and girls. *Ann Hum Biol* 2006;33:55–63
- ⁷⁴ Alikafli A, Nazl L, AlevOzon G, et al. The relationship between serum adiponectin, tumor necrosis factor-alpha, leptin levels and insulin sensitivity in childhood and adolescent obesity: adiponectin is a marker of metabolic syndrome. *J Clin Res Ped Endo* 2009;1:233-239
- ⁷⁵ Miras M, Ochetti M, Martín S, et al. Serum levels of adiponectin and leptin in children born small for gestational age: relation to insulin sensitivity parameters. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2010;23:463-71.
- ⁷⁶ Pulzer F, Haase U, Knüpfer M, et al. Serum leptin in formerly small-for-gestational-age children during adolescence: relationship to gender, puberty, body composition, insulin sensitivity, creatinine, and serum uric acid. *Metabolism.* 2001;50:1141-1146.
- ⁷⁷ Martínez-Aguayo A, Capurro T, Peña V, et al. Comparison of leptin levels, body composition and insulin sensitivity and secretion by OGTT in healthy, early pubertal girls born at either appropriate- or small-for-gestational age. *Clin Endocrinol* 2007;67:526-532
- ⁷⁸ Satoh N, Ogawa Y, Katsuura G, et al. Sympathetic activation of leptin via the ventromedial hypothalamus: leptin-induced increase in catecholamine secretion. *Diabetes.* 1999;48:1787–1793.
- ⁷⁹ Mark AL, Correia M, Rahmouni K, et al. Loss of leptin actions in obesity: two concepts with cardiovascular implications. *Clin Exp Hypertens.* 2004;26:629–636.
- ⁸⁰ Coleman R, Herrmann T. Nutritional regulation of leptin in humans *diabetologia.* 1999;42:639–646.
- ⁸¹ Fried S, Ricci M, Russell C, et al. Regulation of leptin production in humans. *J Nutr.* 2000;130:S3127–3131.

-
- ⁸²Rajapurohitam V, Javadov S, Purdham D, et al. An autocrine role for leptin in mediating the cardiomyocyte hypertrophic effects of angiotensin II and endothelin-1. *J Mol Cell Cardiol.* 2006;41:265–274.
- ⁸³Bates S, Myers M. The role of leptin receptor signaling in feeding and neuroendocrine function. *Trends Endocrinol Metab.* 2003;14:447–452.
- ⁸⁴Bates S, Myers M. The role of leptin-STAT3 signaling in neuroendocrine function: an integrative perspective. *J Mol Med.* 2004;82:12–20.
- ⁸⁵Mark A, Correia M, Rahmouni K, et al. Selective leptin resistance: a new concept in leptin physiology with cardiovascular implications. *J Hypertens.* 2002;20:1245–1250.
- ⁸⁶Margetic S, Gazzola C, Pegg G, et al. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002;26:1407–1433.
- ⁸⁷Rahmouni K, Haynes W. Leptin and the cardiovascular system. *Recent Prog Horm Res.* 2004;59:225–244.
- ⁸⁸ Unger R. Lipid overload and overflow: metabolic trauma and the metabolic syndrome. *Trends Endocrinol Metab.* 2003;14:398-403
- ⁸⁹ Unger H. Hyperleptinemia: protecting the heart from lipid overload. *Hypertension* 2005, 45:1031–1034.
- ⁹⁰ Franks P, Brage S, Luan J, et al. Leptin predicts a worsening of the features of the metabolic syndrome independently of obesity. *Obes Res* 2005;13:1476–1484.
- ⁹¹ Wakabayashi Y, Nakada T, Murata K, et al. Neurokinin B and dynorphinA in kisspeptin neurons of the arcuate nucleus participate in generation of periodic oscillation of neural activity driving pulsatile gonadotropin-releasing hormone secretion in the goat. *J Neurosci.* 2010;30:3124–3132.
- ⁹² Donato J Jr, Cravo R, Frazao R, et al. Leptin's effect on puberty in mice is relayed by the ventral premammillary nucleus and does not require signaling in Kiss1 neurons. *J Clin Invest.* 2011;121:355–368.
- ⁹³Palmer M, Radovick S, Boepple P. Leptin Levels in children with central precocious Puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2260–2265.
- ⁹⁴Verrotti A, Basciani F, Trotta D, et al. Serum leptin levels in girls with precocious puberty. *Diabetes Nutr Metab.* 2003;16:125-9
- ⁹⁵ Su P, Yang S, Yu J, et al. Study of leptin levels and gene polymorphisms in patients with central precocious puberty. *Pediatr Res.* 2012;71:361-7.
- ⁹⁶Heger S, Partsch C, Peter M, et al. Serum leptin levels in patients with progressive central precocious puberty. *Pediatr Res.* 1999;46:71-5.
- ⁹⁷Stockl D, Meisinger C, Peters A, et al. Age at menarche and its association with the metabolic syndrome and its components: Results from the KORA F4 Study. *PLoS ONE.* 2011;6:e26076.
- ⁹⁸ Freedman D, Kettel L, Serdula K, et al. The relation of menarcheal age to obesity in childhood and adulthood: the Bogalusa heart study. *BMC Pediatrics* 2003;3:1-9.
- ⁹⁹He C, Zhang C, Hunter D, et al. Age at menarche and risk of type 2 diabetes: results from 2 large prospective Cohort Studies. *Am J Epidemiol* 2010;171:334–344
- ¹⁰⁰Glueck C, Morrison J, Wang P. Insulin resistance, hypofibrinolysis, hiperandrogenism and coronary heart disease risk factors in 25 pre-perimenarchal

girls age <14 years, 13 with precocious puberty, 23 with a first-degree relative with polycystic ovary syndrome. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2008;21:973-83

¹⁰¹Pasquino A, Pucarelli I, Accardo F, et al. Long-Term observation of 87 girls with idiopathic central precocious puberty treated with gonadotropin-releasing hormone analogs: Impact on adult height, body mass index, Bone mineral content, and reproductive function. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:190–195.

¹⁰²Aguiar A, Couto-Silva A, Vicente E, et al. Weight evolution in girls treated for idiopathic central precocious puberty with GnRH analogues. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2006;19:1327-34.

¹⁰³Palmert M, Mansfield M, Crowley W, et al. Is obesity an outcome of gonadotropin-releasing hormone agonist administration? Analysis of growth and body composition in 110 patients with central precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:4480–4488.

¹⁰⁴Boot A, de Muinck Keizer-Schrama S, Pols H, et al. Bone mineral density and body composition before and during treatment with gonadotropin-releasing hormone agonist in children with central precocious puberty and early puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:370–373.

¹⁰⁵Díaz-Rodríguez I, Zurita-Cruz J, Nishimura-Meguro E. Frecuencia de sobrepeso y obesidad en pacientes bajo tratamiento con leuprolide. XII Congreso Anual de la Sociedad Mexicana de Endocrinología Pediátrica. 2011

¹⁰⁶Lazar L, Padoa A, Phillip M. Growth pattern and final height after cessation of gonadotropin-suppressive therapy in girls with central sexual precocity. *J Clin Endocrinol Metab* 2007, 92:3483–3489.

¹⁰⁷Arrigo T, De Luca F, Antoniazzi F, et al. Reduction of baseline body mass index under gonadotropin-suppressive therapy in girls with idiopathic precocious puberty. *Eur J Endocrinology* 2004;150: 533–537.

¹⁰⁸Giabicani E, Allali S, Durand D, Sommet J, Couto-Silva A, et al. Presentation of 493 Consecutive Girls with Idiopathic Central Precocious Puberty: A Single-Center Study. *PLoS ONE* 2013;8:e70931.

¹⁰⁹ Sørensen K, Mourintzen A, Mogensen S, et al. Insulin sensitivity and lipid profiles in girls with central precocious puberty before and during gonadal suppression. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:3736-44

¹¹⁰ Emre M, Bilir T, Akinci A, et al. The Effect of gonadotropin-releasing hormone analog treatment (leuprolide) on body fat distribution in idiopathic central precocious puberty. *Turk L Pediatr* 2011;53:27-33

¹¹¹ Medical Subject Heading (fecha de acceso 28-09-2012). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68009765>

¹¹² NORMA Oficial Mexicana NOM. (fecha de acceso 28-09-2012). Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/031ssa29.html>

¹¹³ Fernández J, Redden D, Pietrobelli A, et al. Waist circumference percentiles in children and adolescents. *J Pediatr* 2004;145:439-44

-
- ¹¹⁴ Zhu S, Wang Z, Heshka S, et al. Waist circumference and obesity associated risk factors among whites in the third National Health and Nutrition Examination Survey: clinical action thresholds. *Am J Clin Nutr.* 2002; 76: 743–749.
- ¹¹⁵ Norma oficial mexicana NOM-030-SSA2-1999, Para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial.
- ¹¹⁶ National High Blood Pressure Education Program Working Group on Hypertension Control in Children and Adolescents. Update on the 1987 Task Force Report on High Blood Pressure in Children and Adolescents: a working group report from the National High Blood Pressure Education Program. *Pediatrics.* 1996;98:649–658
- ¹¹⁷ Medical Subject Heading (fecha de acceso 10-01-2013). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68018149>
- ¹¹⁸ Medical Subject Heading (fecha de acceso 10-01-2013). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68052456>
- ¹¹⁹ Medical Subject Heading (fecha de acceso 10-01-2013). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68015228>
- ¹²⁰ The Lipid Research Clinics Program Epidemiology Committee. Plasma lipid distributions in selected North Am populations: the Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. *Circulation.* 1979;60:427–439.
- ¹²¹ Medical Subject Heading (fecha de acceso 28-09-2012). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh?term=insulin%20resistence>
- ¹²² García-Cuartero B, García-Lacalle C, Jiménez-Lobo C, et al. Índice HOMA y QUICKI, insulina y peptido C en niños sanos. Puntos de corte de riesgo cardiovascular. *An Pediatr* 2007; 66:481-490.
- ¹²³ Norma oficial mexicana NOM-030-SSA2-1999, Para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial.
- ¹²⁴ Medical Subject Heading (fecha de acceso 10-01-2013). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68018149>
- ¹²⁵ Medical Subject Heading (fecha de acceso 28-09-2012). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh?term=leptin>
- ¹²⁶ Tanner JM. Issues and advances in adolescent growth and development. *J Adolesc Health Care.* 1987 Nov;8(6):470-8.
- ¹²⁷ Medical Subject Heading (fecha de acceso 28-09-2012). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68010375>
- ¹²⁸ Organización Mundial de la Salud (fecha de acceso 28-05-2014). Disponible en: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/pa/es/>
- ¹²⁹ Godard C; Rodríguez M; Díaz N; et al. Valor de un test clínico para evaluar actividad física en niños. *Rev Méd Chile* 2008; 136: 1155-1162
- ¹³⁰ <http://www.cdc.gov/growthcharts/>
- ¹³¹ Medical Subject Heading (fecha de acceso 28-09-2012). Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh?term=age>
- ¹³² Medical Subject Heading (fecha de acceso 10-01-2013). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68002097>

-
- ¹³³Medical Subject Heading (fecha de acceso 28-09-2012). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh?term=body%20fat>
- ¹³⁴ Karamizadeh Z, Tabebordbar M, Saki F, Karamifar H, Amirhakimi G. The side effects of gonadotropin releasing hormone analog (diphereline) in treatment of idiopathic central precocious puberty. *Acta Med Iran.* 2013;51:41-6.
- ¹³⁵ Su P, Wang S, Lin C, Chen J, Changlai C, et al. Leptin changes in Taiwanese girls with central precocious puberty before and during the GnRH agonist treatment. *Acta Paediatr Taiwan.* 2005;46:278-83.
- ¹³⁶ Yoshinaga M, Sameshima K, Tanaka Y, Wada A, Hashiguchi J, et al. Adipokines and the prediction of the accumulation of cardiovascular risk factors or the presence of metabolic syndrome in elementary school children. *Circ J.* 2008;72:1874-8
- ¹³⁷ Kynde I, Heitmann B, Bygbjerg I, Andersen L, Helge J. Hypoadiponectinemia in overweight children contributes to a negative metabolic risk profile 6 years later. *Metabolism* 2009;58:1817-24.
- ¹³⁸ Sun Q, van Dam R, Meigs J, Franco O, Mantzoros C, et al. Leptin a soluble leptin receptor levels in plasma and risk of type 2 diabetes in U.S. women. *Diabetes* 2010;59:611-18.
- ¹³⁹ Hamnvik O, Liu X, Petrou M, Gong H, Chamberland J, et al. Soluble leptin receptor and leptin are associated with baseline adiposity and metabolic risk factors, and predict adiposity, metabolic syndrome, and glucose levels at 2-year follow-up: the Cyprus metabolism prospective cohort study. *Metabolism* 2011;60:987-93.
- ¹⁴⁰ Greulich W, Pyle S. Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist, 2nd Ed. Stanford CA: 1959.Stanford University Press.