

RACCOMANDAZIONI E LINEE GUIDA

Ormoni steroidei surrenalici: deidroepiandrosterone
e deidroepiandrosterone-solfatoAdrenal steroid hormones: dehydroepiandrosterone
and dehydroepiandrosterone sulphateRomolo M. DORIZZI ¹ *, Vincenzo BRESCIA ² a nome del GdS-EMM¹SIPMeL, Castelfranco Veneto, Treviso, Italia; ²UOC Patologia Clinica Ospedaliera, Azienda Ospedaliero-Universitaria
Consortiale Policlinico, Bari, Italia*Autore di contatto: Romolo M. Dorizzi, Via G. Prati 16, 37124 Verona, Italia. E-mail: romolo.dorizzi@gmail.com

RIASSUNTO

Deidroepiandrosterone (DEA) e DEA-solfato (DEA-S), anche se sono spesso definiti ormoni, sono pro-ormoni dato che non attivano il recettore degli androgeni, ma possono essere convertiti in androgeni attivi. La biosintesi del DEA a partire dal colesterolo richiede tappe enzimatiche in successione attraverso la formazione di numerosi metaboliti, a monte e a valle, con struttura e immunogenicità molto simile a quella del DEA con importanti effetti dal punto di vista fisiopatologico e analitico. Il DEA è convertito in DEA-S mediante l'aggiunta di un gruppo solfato in posizione 3 ed entrambi possono essere convertiti in androgeni più potenti nei tessuti periferici. DEA e DEA-S si legano poco dopo il rilascio in circolo alle proteine e in particolare (90%) all'albumina ma il legame del DEA-S è più forte e raggiunge una concentrazione oltre cento volte più alta di quella del DEA. Nel maschio meno del 5% del testosterone deriva dagli androgeni surrenalici mentre nella femmina fertile il DEA è la fonte principale di androgeni. Non sono state ancora trovate prove certe dell'utilità clinica della misurazione di DEA/DEA-S ma le più frequenti indicazioni alla loro misurazione nella pratica clinica sono:

- diagnosi e diagnosi differenziale dell'iperandrogenismo;
- supporto nella diagnosi di iperplasia surrenale congenita;
- diagnosi e diagnosi differenziale dell'adrenarca prematuro.

Gli studi clinici non hanno riportato prove significative che bassi livelli di DEA causino i disturbi degenerativi legati all'invecchiamento e le revisioni dei dati disponibili sull'utilità della somministrazione del DEA per la gestione dei disturbi legati all'invecchiamento, la riduzione della forza muscolare, l'aumento di malattie e mortalità cardiovascolare e altre patologie non ne hanno supportato l'uso nella pratica clinica. Sono riferiti e discussi i dati della scarsa letteratura disponibile relativa agli intervalli di riferimento ottenuti con metodi immunometrici e con metodi in LC-MS/MS. Il lavoro del Consorzio Harmoster ha confermato che produttori, professionisti del laboratorio e società scientifiche devono incentivare la collaborazione per migliorare la qualità dei metodi di misura di DEA e DEA-S e la qualità dell'informazione fornita a clinici e pazienti nel referto. Le raccomandazioni individuate sulla base della letteratura e della pratica clinica odierna sono:

- il DEA-S deve essere misurato nella diagnosi differenziale dell'adrenarca prematuro;
- nella diagnosi differenziale dell'iperandrogenismo può essere misurato il DEA-S;
- nella diagnosi di iperplasia surrenalica congenita (CAH) può essere misurato il DEA-S;
- nella diagnosi di Sindrome dell'ovaio policistico (PCOS) può essere misurato il DEA-S;
- il referto di DEA-S deve riportare l'intervallo di riferimento specifico per età, genere, metodo e/o analizzatore usato per la determinazione;
- i laboratori che misurano e refertano il DEA-S devono disporre di una competenza adeguata e devono essere in contatto con clinici di riferimento.

(Per citare questo articolo: Dorizzi RM, Brescia V; GdS-EMM. Ormoni steroidei surrenalici: deidroepiandrosterone e deidroepiandrosterone-solfato. Riv Ital Med Lab 2024 Oct 14. DOI: 10.23736/S1825-859X.24.00262-7)

ABSTRACT

Deidroepiandrosterone (DHEA) and DHEA-sulphate (DHEA-S), although often referred to as hormones, are prohormones as they do not activate the androgen receptor, but can be converted to active androgens. The biosynthesis of DHEA from cholesterol requires enzymatic steps in succession through the formation of numerous metabolites, upstream and downstream, with structure and immunogenicity very similar to that of DHEA with important pathophysiological and analytical point of view. DHEA is converted to DHEA -S by the addition of a sulphate group at position 3, and both can be converted to more potent androgens in peripheral tissues. DHEA and DHEA-S bind shortly after release into circulation to proteins and in particular (90%) to albumin, but the binding of DHEA-S is stronger and reaches a concentration more than a hundred times higher than that of DHEA. In the male less than 5% of testosterone is derived from adrenal androgens whereas in the fertile female DHEA is the main source of androgens. No conclusive evidence of the clinical usefulness of DHEA/DHEA-S measurement has yet been found, but the most frequent indications for their measurement in clinical practice are:

- diagnosis and differential diagnosis of hyperandrogenism;
- support in the diagnosis of congenital adrenal hyperplasia;
- diagnosis and differential diagnosis of premature adrenarche.

Clinical studies have not reported significant evidence that low levels of DHEA cause age-related degenerative disorders, and reviews of available data on the usefulness of DHEA administration for the management of age-related disorders reduced muscle strength, increased cardiovascular disease and mortality, and other conditions have not supported its use in clinical practice. Data from the scarce available literature on reference intervals obtained by immunometric and LC-MS/MS methods are reported and discussed. The work of the Harmoster Consortium confirmed that manufacturers, laboratory professionals and scientific societies need to foster collaboration to improve the quality of DHEA and DHEA-S measurement methods and the quality of information provided to clinicians and patients in the report. The recommendations identified on the basis of the literature and today's clinical practice are:

- DHEA must be measured in the differential diagnosis of premature adrenarche;
- DHEA-S may be measured in the differential diagnosis of hyperandrogenism;
- in the diagnosis of congenital adrenal hyperplasia (CAH) the DHEA-S can be measured;
- in the diagnosis of polycystic ovary syndrome (PCOS) the DHEA-S can be measured;
- the DHEA-S report must state the specific reference interval for age, gender, method and/or analyzer used for the determination;
- laboratories that measure and report DHEA-S must have appropriate expertise and must be in contact with referring clinicians.

Key words: Deidroepiandrosterone; Deidroepiandrosterone sulphate; Adrenarche; Hyperandrogenism; Congenital adrenal hyperplasia; Polycystic ovary syndrome.

Introduzione

Il gruppo di Studio in Endocrinologia e Malattie del Metabolismo della Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio (GdS-EMM SIPMeL) ha inteso portare all'attenzione dei colleghi professionisti del laboratorio clinico le principali caratteristiche di deidroepiandrosterone (DEA) e di DEA-solfato (DEA-S). In questo contributo sono descritti la struttura molecolare, la funzione, il significato biologico, gli aspetti analitici e clinici, le raccomandazioni sul corretto utilizzo.

Struttura e caratteristiche molecolari

Il DEA (3 β -3-idrossi-5-androst-5-en-17-one; androsteno-17-one; prasterone; androst-5-en-3 β -ol-17-one) è l'ormone steroideo più abbondante nell'uomo e contiene 19 atomi

di carbonio con formula bruta o molecolare C₁₉H₂₂O₂ e Massa Molare 288,42 g/mol.¹

DEA e DEA-S, anche se sono spesso definiti ormoni androgeni surrenalici, sono pro-ormoni, che non attivano il recettore degli androgeni, ma possono essere convertiti in androgeni attivi.² L'attività intrinseca sul recettore è debole e a causa della competizione per il legame con agonisti completi come il testosterone, può in realtà comportarsi più come un antagonista a seconda dei livelli circolanti di testosterone e diidrottestosterone (DHT), e quindi come un antiandrogeno. La sua affinità molto bassa per il recettore ne riduce l'importanza.

La biosintesi degli steroidi a partire dal colesterolo richiede differenti tappe enzimatiche in successione che sono riassunte in numerosi articoli (Figura 1).²⁻⁵

Gli enzimi principali della sintesi sono:

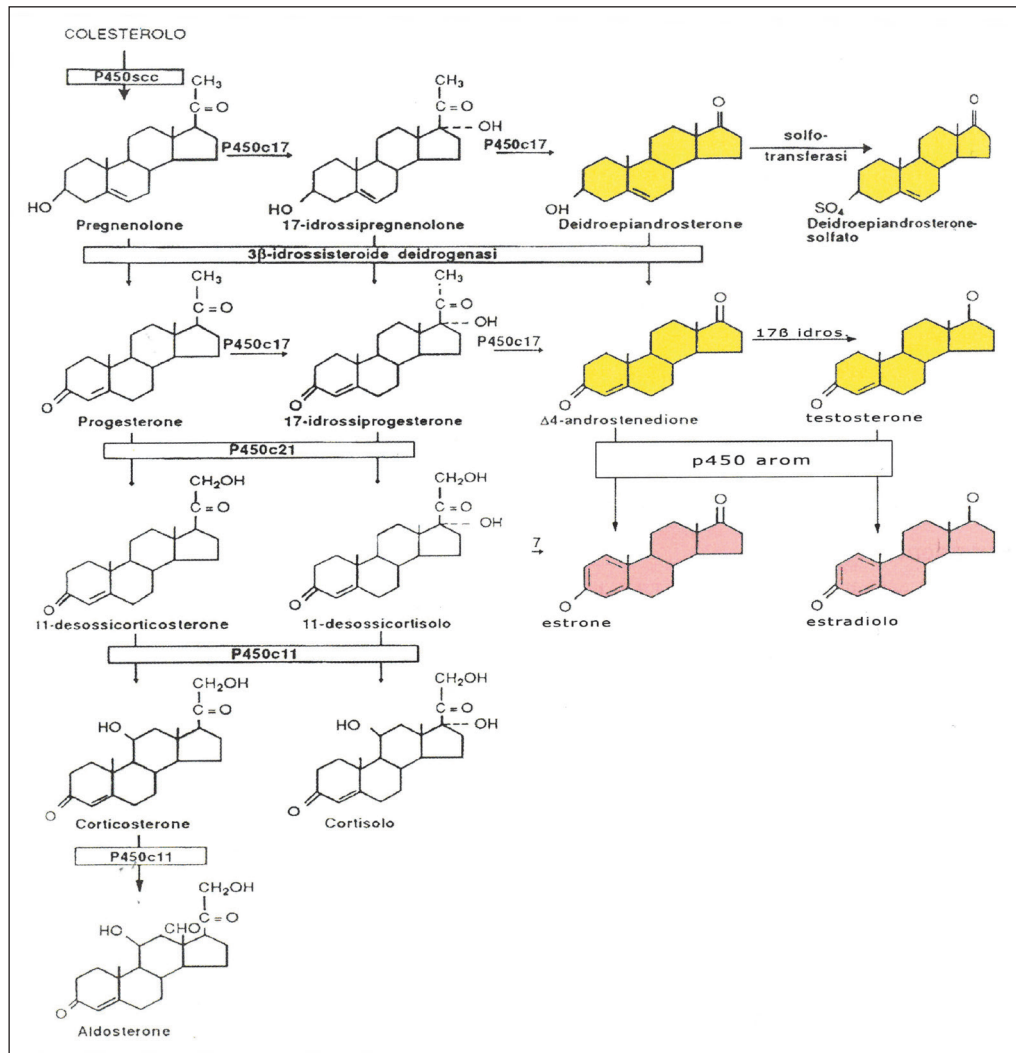


Figura 1.—Via biosintetica semplificata degli steroidi (da Attanasio *et al.*).³

- idrossilasi (citocromo-450) che catalizzano la sostituzione di un gruppo idrossilico in un gruppo idrogeno;
- liasi che distaccano una catena laterale: la 17, 20 liasi converte il colesterolo in pregnenolone, uno steroide C21 in uno C19;
- deidrogenasi che catalizzano trasferimento dell'idrogeno, ossidazione e riduzione;
- isomerasi che catalizzano la migrazione di un doppio legame. La più importante è la $\Delta 5$ chetosteroidi-isomerasi, che converte il pregnenolone in progesterone, attraverso l'ossidazione del gruppo 3β -idrossile e la migrazione di un doppio legame.^{3, 4}

Le tappe principali della sintesi sono:

- distacco della catena laterale del colesterolo per opera della 20-22 liasi che porta il numero di atomi di carbonio

da 27 a 19 e formazione del pregnenolone (a livello della membrana interna mitocondriale);

- isomerizzazione con trasposizione del doppio legame dall'anello B all'anello A e contemporanea ossidazione del gruppo idrossilico in posizione 3β (per opera della 3β -idrossisteroide-deidrogenasi) dell'anello A con formazione del progesterone;
- idrossilazione in posizione 17α (17α -idrossilasi) con formazione di 17-OH-pregnenolone e 17-OH-progesterone;
- distacco della catena in posizione 17, sia dei $\Delta 5$ che dei $\Delta 4$ pregnani (17-20 liasi) con sintesi degli androgeni deboli rispettivamente DEA e androstenedione.^{3, 4}

Nel corticosurrene sono attive sia la via $\Delta 5$ che quella $\Delta 4$ per la sintesi di tutti e tre i gruppi degli steroidi (pre-

gnani, androstani ed estrani). Nel testicolo è più attiva la via $\Delta 5$ che quella $\Delta 4$ per la sintesi degli androgeni, mentre nell'ovaio la via più attiva è quella $\Delta 4$.^{3, 4}

Il DEA, precursore di androgeni ed estrogeni che deriva dal pregnenolone originato a sua volta dal colesterolo, è prodotto fisiologicamente dalla zona reticolare della corteccia del surrene e ha una azione debolmente androgenica. Il DEA è convertito in DEA-S mediante l'aggiunta di un gruppo solfato in posizione 3 da una sulfotransferasi (SULTA1). DEA e DEA-S possono essere convertiti nei tessuti periferici in androgeni più potenti come testosterone e DHT.

Funzione e significato biologico

DEA e DEA-S sono secreti in forma libera e, poco dopo il rilascio in circolo, si legano alle proteine e in particolare (90%) all'albumina e alle lipoproteine ma il legame del DEA-S è più forte. Di conseguenza la concentrazione del DEA-S è molto più alta (più di cento volte) di quella del DEA. Nel maschio con funzione gonadica nei limiti la conversione degli androgeni surrenalici a testosterone rappresenta meno del 5% dell'ormone con un effetto fisiologico trascurabile mentre nella femmina fertile il DEA è la fonte principale di androgeni; l'apporto dei precursori surrenalici nella fase follicolare è pari a due terzi della produzione di testosterone totale e a metà della produzione di DHT e a metà del ciclo è pari al 40% a causa dell'aumento del contributo dell'ovaio. Gli androgeni surrenalici, oltre ad essere convertiti in androgeni più potenti a livello periferico, sono aromatizzati in estrogeni. Il DEA è convertito prontamente in DEA-S nel surrene e nell'ovaio, ma anche nel fegato e nei reni o convertito in $\Delta 4$ -androstenedione. Il DEA-S prodotto dal surrene può essere escreto senza essere ulteriormente metabolizzato o può essere convertito in DEA. DEA-S e DEA possono essere metabolizzati a derivati 7-alfa e 16-alfa idrossilati o al $\Delta 5$ -Androstenediolo. L'androstenedione è convertito prima in testosterone e successivamente in DHT nei tessuti sensibili al testosterone per azione della 5-alfa-reduttasi o in androsterone che può essere ulteriormente convertito in androstanediolo.

Non solo l'androstenedione e il testosterone ma anche il DEA può essere convertito in estrogeni in tessuti periferici come cervello, osso, mammella e ovaio soprattutto nel corso della transizione menopausale. Il DEA è ulteriormente metabolizzato ad androstenedione che, a sua volta può essere aromatizzato ad estrone.² Anche se DEA e DEA-S sono secreti in quantità maggiori, l'androstenedione è più importante dal punto di vista qualitativo poiché è convertito più rapidamente in testosterone nei tessuti periferici. Si

stima che la potenza androgenica relativa di DEA, androstenedione, testosterone e DHT sia 5:10:100:300.²

Nelle gonadi e in numerosi altri tessuti, particolarmente nella pelle, il DEA-S è convertito in DEA che può essere metabolizzato in androgeni più potenti e in estrogeni da solfatasi steroidee. DEA-S e metaboliti 16-idrossilati, precursori per la produzione placentare di estriolo, aumentano nel corso della gravidanza.

Il DEA è utilizzato come marcatore della produzione di androgeni da parte del surrene, infatti:

- diminuisce nell'insufficienza surrenalica, negli anziani e nelle donne in peri- e post-menopausa;
- aumenta nell'adenoma e nel carcinoma surrenalico virilizzante, nell'iperplasia surrenalica congenita e nell'irsutismo.⁶ Dato che le gonadi producono molto poco DEA, la misurazione del DEA può aiutare a individuare l'origine degli androgeni misurati nella virilizzazione.

Le azioni biologiche degli androgeni surrenalici osservate più frequentemente durante l'adrenarca consistono nella crescita dei peli pubici e ascellari e nella variazione della composizione del sudore e dell'odore corporeo.⁷

Nei maschi con una funzione gonadica nei limiti l'effetto fisiologico degli androgeni surrenalici è trascurabile in quanto sono responsabili di meno del 5% della produzione giornaliera di testosterone. DEA e DEA-S sono più alti nei bambini obesi che hanno l'adrenarca prima dei bambini magri e gli androgeni surrenalici, direttamente o dopo la conversione periferica in estrogeni, modulano l'attività ipotalamica influenzando il gonadarca; prodotti in eccesso sopprimono LH /FSH e causano oligospermia/infertilità.

L'eccesso di androgeni surrenalici con conversione a testosterone e DHT che si osserva nella sindrome di Cushing, nel carcinoma surrenalico e nell'iperplasia surrenalica congenita è associato:

- nei ragazzi, a ingrossamento prematuro del pene, sviluppo precoce dei caratteri sessuali secondari, chiusura prematura delle placche di crescita epifisarie e bassa statura finale;
- nelle ragazze, ad acne, irsutismo e anomalie del ciclo mestruale e della fertilità.

Tuttavia il DEA, oltre ad agire attraverso androgeni ed estrogeni e i loro recettori specifici, agisce attraverso numerose vie che coinvolgono specifici recettori di membrana, citosolici/nucleari e del reticolo endoplasmatico.

Significato clinico

La maggior parte del DEA è secreto come 3-solfoconiugato, DEA-S, che ha un legame molto più stretto con l'albumina e raggiunge concentrazioni in circolo molto più alte

(più di cento volte) e rappresenta la molecola misurata in genere nei laboratori clinici.²

Non sono state ancora trovate prove certe dell'utilità clinica della misurazione di DEA/DEA-S ma le più frequenti indicazioni nella pratica clinica sono:^{8,9}

- diagnosi e diagnosi differenziale dell'iperandrogenismo (in combinazione con la misurazione di altri steroidi sessuali);
- supporto nella diagnosi di iperplasia surrenale congenita (CAH) anche se la misurazione di DEA e DEA-S ha un ruolo secondario rispetto a quella di cortisolo/cortisone, 17 alfa-idrossiprogesterone e androstenedione;
- diagnosi e diagnosi differenziale dell'adrenarca prematuro.

In genere gli aumenti lievi-moderati dei livelli di DEA-S sono idiopatici ma concentrazioni di DEA/DEA-S più alte di cinque volte il limite superiore di riferimento possono essere misurate nei tumori surrenalici (secondo alcuni nel 90% dei casi) e in particolare nei carcinomi secernenti androgeni, che in genere non mantengono la capacità di produrre androgeni a valle nella sintesi degli steroidi come il testosterone. Al contrario, gli adenomi surrenalici secernenti androgeni possono produrre molto testosterone e quantità minori di DEA/DEA-S.

La CAH da deficit di 3 beta-idrossisteroide deidrogenasi si manifesta nell'infanzia con DEA/DEA-S elevati (cinque-dieci volte il limite superiore di riferimento).^{8,9}

Nel corso degli anni sono stati proposte altre indicazioni per la misurazione di DEA e DEA-S.

Le linee guida dell'insufficienza surrenalica dell'Endocrine Society del 2016 fanno riferimento a DEA/DEA-S in due punti:¹⁰

- suggeriscono di sperimentare la supplementazione di DEA nelle donne in cui permangono sintomi come depressione, astenia e libido diminuita, nonostante la sostituzione ottimale di glucocorticoidi e mineralocorticoidi. Se non sono ottenuti benefici dopo 6 mesi di trattamento che ha portato a una concentrazione di DEA pari al valore medio dell'intervallo di riferimento la somministrazione deve essere interrotta;

- la diagnosi di insufficienza surrenalica primaria (PAI) è tradizionalmente basata su bassa concentrazione di cortisolo nel sangue al mattino confermata dopo stimolo. Un valore di DEA-S (meno quello di DEA) molto più basso del limite di riferimento per età e genere non dovrebbero essere trascurati anche in assenza di segni di PAI. Comunque il DEA-S può essere basso in alcuni soggetti, soprattutto nell'età più avanzata, anche senza PAI e la sua concentrazione non è sufficiente per fare diagnosi.¹⁰ Secondo

Dennedy *et al.* la sensibilità e la specificità del DEA-S sono confrontabili a quelle del test di soppressione al desametasone da 1 mg per fare diagnosi di ipercortisolismo subclinico nell'incidentaloma subclinico.¹¹

Il recente aggiornamento della linea guida di Endocrine Society sulla gestione dell'ovaio policistico (PCOS)¹² applica in modo puntuale il modello GRADE alla diagnosi biochimica di iperandrogenismo nella endocrinopatia più frequente nell'età fertile (prevalenza del 10-13% dall'adolescenza alla post-menopausa);

- la PCOS deve essere diagnosticata utilizzando i criteri Evidence Based definiti nel 2018, che si basano sui criteri di Rotterdam del 2003 (presenza di due su tre dei seguenti elementi: iperandrogenismo clinico/biochimico, disfunzione ovulatoria e ovaie policistiche all'ecografia);¹²
- tra le raccomandazioni per la valutazione dell'iperandrogenismo biochimico tre sono *evidence-based* anche se la qualità dell'evidenza è molto bassa:

- devono essere utilizzati testosterone totale e libero (anche stimato con l'indice di androgeni liberi calcolato);

- il DEA-S può essere misurato, tenendo conto della scarsa specificità e del calo associato all'età (qualità dell'evidenza molto bassa), se testosterone totale e libero non sono elevati;

- il testosterone totale e il DEA-S devono essere misurati con metodi in spettrometria di massa tandem (LC-MS/MS) validati e molto accurati piuttosto che con metodi immunometrici.

Tra le altre indicazioni pratiche del documento:

- la diagnostica biochimica è particolarmente utile nelle pazienti con segni clinici di iperandrogenismo minimi o assenti;

- l'iperandrogenismo biochimico può essere valutato in modo affidabile solo dopo almeno tre mesi di sospensione dei contraccettivi orali combinati;

- se gli androgeni sono marcatamente al di sopra del limite di riferimento devono essere prese in considerazione cause di iperandrogenismo diverse dalla PCOS.

L'Endotext, disponibile online (<https://www.endotext.org/>),² rappresenta il repository più completo dei dati accumulati in un ampio spettro di condizioni e patologie come, ad esempio:

- disfunzioni dell'attività sessuale: nonostante le premesse favorevoli, non è stato confermato un ruolo positivo del DEA da trial randomizzati contro placebo né nella femmina (in particolare sui sintomi della menopausa)^{13,14} né nel maschio;¹⁵

- alterazioni dell'umore e stato di generico malessere;¹⁶

- riduzione della forza muscolare¹⁷ e della mobilità¹⁸ e

aumento della fragilità.¹⁹ L'aumento della frequenza delle cadute con il passare degli anni è stata collegata alla riduzione della massa e della forza muscolare; nell'uomo²⁰ e nella donna in post menopausa è stata proposta una correlazione positiva con la concentrazione di DEA nel sangue con la densità della massa ossea;²¹

- aumento di malattie e mortalità per malattie cardiovascolari;²²

- disordini dell'umore e dei processi cognitivi. Nel sistema nervoso centrale il DEA è considerato un neurosteroido; bassi DEA/DEA-S sono stati associati a depressione severa in tutte le fasce di età mentre un DEA-S elevato è stato associato a depressione nella transizione della menopausa. Studi randomizzati controllati con placebo non hanno dimostrato benefici della terapia con DEA sull'umore, sulla qualità della vita, sulla percezione della salute fisica ed emotiva in post-menopausa e nemmeno per le patologie che comportano il declino cognitivo correlato all'età;²³⁻²⁵

- altri disordini. Nonostante i numerosi studi la relazione tra DEA e BMI e resistenza insulinica/metabolismo dei carboidrati rimane incerta e nessuna azione terapeutica è stata dimostrata nelle malattie cardiovascolari, nello stroke, nell'ipertensione polmonare e nelle patologie autoimmuni.²

Il dibattito tra chi sostiene la relazione positiva tra DEA-S elevato e salute migliore²⁶ e chi nega che la supplementazione con DEA porti benefici rilevanti sulle prestazioni fisiche e la qualità di vita è continuato.²⁷ L'American Cancer Society ha raccomandato cautela nell'impiego di DEA nei pazienti con cancro e in particolare nelle forme che rispondono agli ormoni come mammella, prostata ed endometrio²⁸ e una Cochrane Systematic Review ha valutato negativamente la supplementazione del DEA in fase peri- e postmenopausale.²⁹

Gli studi clinici non hanno riportato prove significative che bassi livelli di DEA causino i disturbi degenerativi legati all'invecchiamento o che l'assunzione di DEA possa aiutare a prevenirli/trattarli; le revisioni dei dati disponibili sull'utilità della somministrazione del DEA per la gestione dei disturbi legati all'invecchiamento non ne hanno supportato l'uso nella pratica clinica.

La somministrazione di DEA è presentata talora come una "ottimizzazione ormonale" più che un'integrazione ormonale dato che dal punto di vista teorico la supplementazione di un pre-ormone potrebbe fornire ai tessuti periferici concentrazioni di steroidi sessuali adeguati alle esigenze locali senza esporre altri tessuti ad androgeni e estrogeni riducendo fortemente effetti collaterali indesiderati.²

Poiché sono note diverse azioni biochimiche attraverso le quali il DEA potrebbe migliorare i disturbi che colpiscono la popolazione anziana e si tratta di una molecola ben tollerata e di un farmaco poco costoso, ulteriori studi clinici multicentrici di grandi dimensioni potrebbero probabilmente permettere di comprendere meglio la sua utilità clinica nella gestione dei disturbi legati all'invecchiamento.²

Si può pertanto concludere che nonostante vi sono ancora sostenitori del DEA come una sorta di "fontana della giovinezza" e sia molto facile acquistare in rete preparati che lo contengono^{6, 30-34} l'impiego del DEA come integratore non è conforme alla medicina basata sulle prove di efficacia (EBM).²

Caratteristiche preanalitiche

Matrice biologica

Gli analizzatori automatici in commercio sono certificati per misurare il DEA-S nel siero e nel plasma (litio eparina, K2-EDTA e K3-EDTA) a meno che il produttore dichiari il contrario. Higashi ha proposto il monitoraggio della variazione della concentrazione salivare del DEA dopo supplementazione.³⁵ Da molti anni sono disponibili metodi in ELISA per la misura del DEA-S^{36, 37} e del DEA^{38, 39} nella saliva. Tuttavia i metodi immunometrici per gli androgeni salivari sono poco adatti a misurare le basse concentrazioni tipiche di condizioni come l'ipogonadismo a insorgenza tardiva. L'auspicio⁴⁰⁻⁴² che la saliva trovasse uno spazio nella diagnostica endocrinologica di laboratorio ha trovato realizzazione solo per il cortisolo, per il quale la straordinaria semplicità della raccolta del campione ha reso la saliva una scelta quasi obbligata anche se va ribadito che una raccolta non corretta della saliva pregiudica il risultato dell'analisi.⁴³

L'ottima sensibilità delle attuali metodiche di LC-MS/MS ha favorito la possibilità di misurare le basse concentrazioni del DEA nella saliva. Limite rilevante di questa tecnologia è rappresentato dalla scarsità di dati in letteratura relativi agli intervalli di riferimento.^{44, 45} L'impiego della saliva come matrice per studiare la concentrazione degli ormoni è stato discusso anche di recente in Italia ma DEA e DEA-S non sono stati considerati.⁴⁶⁻⁴⁸

Modalità di prelievo

DEA e DEA-S sono sintetizzati e secreti principalmente dalla zona reticularis della corteccia surrenalica in risposta alla corticotropina (ACTH).^{1, 11} Il DEA ha un'emivita breve (25 minuti) e presenta come il cortisolo e l'ACTH un ritmo circadiano che tende ad appiattirsi nelle decadi avan-

zate⁴⁹ Il DEA-S ha un'emivita prolungata (10-16 ore) con livelli relativamente stabili durante il giorno che lo rendono un marcatore più interessante per rilevare, per esempio, una soppressione cronica dell'ACTH.²

Trasporto e conservazione del campione

Il campione di siero o plasma presenta una elevata stabilità a temperatura ambiente (5 giorni a 20-25 °C) e un tempo di conservazione fino a 14 giorni a 2-8 °C e di 12 mesi a -20 °C. Devono essere evitati cicli ripetuti di congelamento/scongelo.

Il trasporto del campione non necessita di particolari attenzioni oltre a quelle standard previste dalle raccomandazioni delle linee guida per il trasporto del materiale biologico.⁵⁰

Variabilità biologica preanalitica

Il DEA-S è molto elevato nel cordone ombelicale e cala rapidamente dopo la nascita (anche se in misura minore in caso di prematurità). Nelle prime settimane di vita il DEA-S si riduce di oltre l'80% e rimane basso fino all'adrenarca quando torna a risalire fino ad arrivare a valori sovrapponibili a quelli alla nascita intorno alla terza decade. Cala poi di circa il 2-3% l'anno nei successivi 40-60 anni e arriva a valori intorno al 20% di quelli di picco nella ottava-nona decade, nella cosiddetta "adrenopausa". L'adrenopausa è indipendente dalla menopausa, si verifica nei due generi come processo graduale a età simili e potrebbe essere causata da una diminuzione della attività della 17,20-liasi o dalla riduzione nella massa della *zona reticularis*.^{51, 52}

Il calo DEA/DEA-S legato all'età mostra una grande variabilità individuale e, anche se la concentrazione del DEA-S non varia nel corso della giornata, la secrezione del DEA mostra un ritmo nel corso della giornata (rimane stabile o aumenta nel corso della mattina); la concentrazione di DEA/DEA-S nella donna adulta è più bassa che nell'uomo⁵³ ed esiste una evidente componente genetica (37-46%).⁵⁴ Va segnalato comunque che il calo della produzione surrenalica di androgeni con l'età non è continuo in tutte le donne e la produzione di androgeni può aumentare transitoriamente durante la transizione menopausale.⁵⁵

I principi della variabilità biologica (VB), introdotti nel secolo scorso da E.K. Harris e a cavallo tra il XX e il XXI secolo da CG Fraser, sono stati approfonditi, chiariti e corretti a partire dalla prima Conferenza strategica della EFLM e sono stati riassunti recentemente su questo giornale.⁵⁶ Sono stati analizzati i limiti della qualità dei dati contenuti nelle Banche Dati (BD) di "prima generazione" meritoriamente raccolte e messe a disposizione dei pro-

fessionisti della medicina di laboratorio da Ricos *et al.* e Westgard *et al.*^{57, 58} È disponibile sul sito dell'EFLM una banca dati di "seconda generazione" di molti analiti basata sulla Biological Variation Data Critical Appraisal Checklist (BIVAC) e sugli articoli dell'European Biological Variation Study (EuBIVAS).⁵⁹

Il Biological variation database-EFLM è una banca-dati progettata in modo completamente nuovo rispetto alle precedenti, di facile utilizzo che consente di ricercare la VB intra- (CVI) e inter-soggetto (CVG) con i rispettivi limiti dell'intervallo di confidenza (IC), di calcolare mediante un calcolatore on-line il *reference change value* (RCV), inserendo la variabilità analitica totale ottenuta nel proprio laboratorio espressa come coefficiente di variazione (CVA), di ottenere in pochi secondi i riferimenti bibliografici completi comprendenti le caratteristiche dello studio: numero, età, genere, stato di salute dei soggetti studiati, durata dello studio, numero, frequenza e orario di raccolta dei campioni, numero dei replicati dell'analisi, valore della CVA degli studi prodotti da EuBIVAS.⁵⁹

I dati molto attendibili prodotti dall'EuBIVAS per un gran numero di misurandi ottenuti in soggetti provenienti da cinque paesi europei possono essere applicati per definire specifiche di prestazione analitica (APS), valori di variazione di riferimento (RCV), indice di individualità (II) utili per definire la significatività clinica della variazione nei risultati di laboratorio rilevata nel monitoraggio di un paziente nel tempo.⁵⁹

La stima della VB degli ormoni, che possono presentare un ritmo secretorio (giornaliero, mensile, stagionale), richiede spesso di rispettare in modo preciso il momento della raccolta di sangue e urine e di tener conto di età, genere, assunzione di farmaci. Il Materiale Digitale Supplementare 1 (File Supplementare di Testo 1) contiene esempi di ormoni e farmaci che interferiscono nella concentrazione di DEA-S e DEA.

Nella BD di prima generazione VB intra- (CVI), VB inter-soggetto (CVG) e indice di individualità (II) e sono risultate nel genere femminile 6,35%, 30,7% e 0,257,⁵⁸ anche se l'unico articolo citato riporta una CVI e una CVG di 20 e 49% rispettivamente. Lo studio è stato condotto in due gruppi di donne in premenopausa (uno di 11 soggetti di età media di 35 anni e uno di 10 soggetti con età media di 25 anni e il DEA-S è stato misurato con un metodo ELISA home made).^{60, 61}

Recentemente impiegando un analizzatore automatico Roche Cobas® e801 (Roche Diagnostics, Rotkreuz, Svizzera) CVI, CVG, II del DEA-S sono risultate rispettivamente 8,55%, 37,64% e 0,23 in 38 soggetti sani maschi

(età mediana 35 anni tra 22 e 59 anni) reclutati in cinque paesi europei. La CVA alla concentrazione media di DEA-S di 7,32 $\mu\text{mol/l}$ è risultata 3,38% e l'RCV in diminuzione e in aumento rispettivamente 19,3% e 23,9%.⁶²

Caratteristiche analitiche

Nel 2015 Chadwick⁶³ concludeva che i metodi usati allora nei laboratori ospedalieri per misurare il DEA-S impiegavano un legame competitivo,⁶⁴ la chemiluminescenza,^{65, 66} la radioimmunologia in provetta rivestita,⁶⁷ l'immunoenzimatica.⁶⁸

Tutte le principali aziende di diagnostici commercializzano analizzatori e reagenti in grado di misurare il DEA-S come riassunto recentemente da Canu.¹

DEA-S e DEA possono essere misurati con metodi immunologici e LC-MS/MS; i laboratori clinici analizzano in genere solo il DEA-S mentre un numero limitato ma crescente di laboratori di ricerca analizza anche il DEA.

Chadwick *et al.*⁶³ sono stati tra i primi a mettere a punto un metodo in LC-MS/MS che teneva conto delle esigenze dei laboratori clinici; la preparazione dei campioni era rapida: l'analisi richiedeva 4 minuti e 30 campioni di 20 μL potevano essere processati in poco più di due ore.

Reattività crociata e interferenze

I metodi immunologici per tutte le piccole molecole come gli steroidi sono caratterizzati da limitata specificità. Molte molecole hanno scheletro di sterano, gruppi funzionali e catene laterali corte simili in prossimità dell'epitopo immunogeno del DEA-S che causano reattività crociate e l'interferenza del pregnenolone solfato in gravidanza ne rappresenta un esempio. Le molecole interferenti comprendono molecole endogene strutturalmente correlate e i loro metaboliti, nonché farmaci come steroidi anabolizzanti, glucocorticoidi sintetici e farmaci a base di erbe. I produttori del reagente dichiarano nell'inserito le principali reattività crociata di ormoni endogeni e sintetici ma l'informazione fornita risulta molto diseguale per quantità e qualità.⁶³ In letteratura l'attenzione dei ricercatori si è concentrata su testosterone ed estrogeni e, a nostra conoscenza, solo un articolo ha studiato la reattività crociata di un metodo per la misura del DEA-S anche se ha usato una modalità molto innovativa tradizionalmente impiegata in precedenza in ambito di droghe d'abuso e di farmaci.⁶⁹ Per valutare la somiglianza molecolare bidimensionale di molecole simili al DEA-S è stata usata una tecnica informatica per stimare se possono essere riconosciute con una reazione crociata dall'anticorpo usato dal meto-

do Modular E170 (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, USA). Nessuna delle 80 molecole valutate ha dimostrato una reattività crociata superiore al 5%, solo due (pregnenolone solfato, 2,1% ed estropipate, 0,7%) una reattività crociata superiore allo 0,5% e ventisei una reattività crociata compresa tra lo 0,05 e lo 0,5%; le molecole con reattività crociata molto debole comprendevano steroidi anabolizzanti (mandrolone), androstani (androstenedione, androsterone solfato), estrani (estrone-3-solfato) e pregnani (17 α -idrossipregnenolone). Gli autori hanno concluso che la reattività crociata non sembra quindi un problema importante per il metodo investigato. L'interferenza arriva a concentrazioni di DEA-S all'interno dell'intervallo di riferimento solo per la concentrazione di pregnenolone solfato raggiunta in gravidanza ma con un effetto clinico trascurabile.⁶⁹

Un caso particolare di interferenza è quella determinata dalla biotina che interessa anche i metodi per misurare il DEA-S che impiegano i reagenti streptavidina-biotina. Le *instructions for use* (IFU) di tutti i reagenti sensibili a tale interferenza segnalano questo rischio anche se con modalità molto disomogenee.⁷⁰

Dati specifici sulla performance del test

Secondo le IFU relative ad alcuni dei metodi maggiormente impiegati nel nostro Paese la variabilità analitica alle diverse concentrazioni di interesse clinico del DEA-S è risultata tra il 3 e l'11%.⁷¹⁻⁷⁴

Caratteristiche postanalitiche

Unità di misura

Può essere utile un promemoria circa i fattori di conversione tra le diverse unità di misura impiegate nei referti del DEA-S: $\mu\text{mol/l} \times 36,846 = \mu\text{g/dL}$; $\mu\text{g/dl} \times 0,02714 = \mu\text{mol/l}$; $\mu\text{g/dl} \times 0,01 = \mu\text{g/ml}$.

Intervalli di riferimento

Il formato delle informazioni relative agli intervalli di riferimento contenute nelle IFU che corredano i reagenti di tutte le aziende è poco omogeneo.⁷¹⁻⁷⁴ Per esempio la IFU di un reagente⁷¹ precisa la numerosità dei soggetti che sono stati studiati per genere e la fascia d'età di 5-10 anni (269 campioni raccolti in bambini, 489 in maschi e 269 femmine),⁷¹ quella di un altro contiene degli intervalli pediatrici in tre classi di soggetti (2-3, 4-9, 10-15 anni) e nei cinque stadi Tanner sia nel maschio che nella femmina, ma per quanto riguarda gli adulti si limita a indicare l'intervallo di riferimento nei maschi e nelle femmine (334 soggetti

in totale): rispettivamente 34,5-568,9 e 25,9-460,2 µg/dl.⁷⁴ Sono davvero pochi gli autori che hanno studiato gli intervalli di riferimento di DEA-S e DEA. Per quanto riguarda il DEA-S:

- Friedrich *et al.* hanno ottenuto impiegando l'analizzatore Immulite 2500 (Siemens, Healthineers, Erlangen, Germania) un intervallo di riferimento del DEA-S per classi di età di 5 anni in 1078 maschi tedeschi attentamente selezionati da 2117 soggetti che è sceso da una mediana di 286 µg/dl con interquartile 226-361 µg/dl nel quinquennio 20-24 anni (N.=91) a una mediana di 89 µg/dl con interquartile 62-125 µg/dl nel quinquennio 70-74 anni (N.=64);⁷⁵

- Denny *et al.* nel 2017 hanno ottenuto nel Regno Unito con analizzatore Immulite 2000 (Siemens, Healthineers, Erlangen, Germania) un intervallo di riferimento del DEA-S che è passato da 56-430 µg/dl nella decade 18-29 anni a 15-200 µg/dl dopo i 60 anni.¹¹

Per quanto riguarda il DEA:

- Kushnir *et al.* impiegando un metodo ID-LC-MS/MS in house hanno calcolato intervallo di riferimento del DEA⁷⁶ in:

- circa 1300 maschi divisi in nove classi tra 6 mesi e 17 anni, una classe di 70 soggetti tra 18 e 40 anni (1330-7780 ng/l) e una di 61 soggetti tra 40 e 67 anni (630-4700 ng/l);

- circa 1300 femmine divisi in nove classi tra 6 mesi e 17 anni, una classe di 74 soggetti tra 18 e 40 anni (1330-7780 ng/l) e una di 116 soggetti tra 40 e oltre 40 anni (630-4700 ng/l). Sono state studiate anche quattro fasi fisiologiche: prima del menarca (413 soggetti; 160-4050 ng/l); dopo menarca ≤18 anni (323 soggetti; 1110-7700 ng/l); premenopausa >18 anni (104 soggetti; 1120-7430 ng/l); postmenopausa (86 soggetti; 600-5730 ng/l);

- Fanelli *et al.* impiegando un metodo ID-LC-MS/MS in house hanno calcolato un intervallo di riferimento (2,5-97,5 percentili) del DEA in quattro gruppi:⁷⁷

- uno di 217 maschi (18-89 anni) di 1,40-14,48 ng/ml
- uno di 134 femmine (18-54 anni in premenopausa) di 1,19-18,93 ng/ml;
- uno di 51 femmine (18-54 anni in fase follicolare) di 2,03-27,04 ng/ml;
- uno di 65 femmine (45-86 anni in postmenopausa) di 0,80-6,60 ng/ml.

Nello studio sono stati anche confrontati i risultati ottenuti in 143 campioni con quelli ottenuti impiegando il metodo RIA DSL (Praga, Repubblica Ceca) che sono risultati significativamente più alti (la mediana di tre volte). La scarsa standardizzazione dei metodi ID-LC-MS/MS dovu-

ta alla mancanza di metodi di misura di riferimento è magnificata quando sono confrontati con un metodo RIA.⁷⁷

Fanelli *et al.* in uno studio successivo impiegando un metodo ID-LC-MS/MS in house hanno calcolato un intervallo di riferimento del DEA di 2,39-21,63 ng/mL in un gruppo di 159 femmine (16-19 anni) applicando severi criteri di selezione (mestruazioni regolari, non segni di irsutismo, non assunzione di contraccettivi orali, non tireopatie o iperprolattinemia) senza differenze significative tra fase follicolare e luteinica.⁷⁸

La ricognizione più accurata dei reagenti disponibili per la misurazione dei DEA-S e DEA rimane a nostra conoscenza quella di Canu.¹

Confronto tra metodi

Gli studi in questo ambito sono ancora del tutto insufficienti a supportare professionisti di laboratorio e clinici nella misurazione del DEA-S.

Secondo uno studio croato l'analizzatore Architect (Abbott) aveva una sovrastima media del 58% rispetto alla LC-MS/MS.⁷⁹

Uno studio olandese ha confrontato in 75 soggetti volontari sani sette analizzatori automatici a un metodo LC-MS/MS con esito ancora più problematico: tre (Beckmann Access, Siemens Immulite 2000 and Diasorin Liaison erano correlati in modo soddisfacente con il metodo LC-MS/MS a diluizione isotopica (slope tra 0,92 e 1,07), tre (Abbott Architect, Siemens Advia Centaur XP e Roche Modular), misuravano concentrazioni di DEAS più alte di quelle dell'ID-LC-MS/MS (slope tra 1,14 e 1,28); uno, Siemens Coat-A-Count RIA, una concentrazione più bassa.⁸⁰

Non si può che condividere le preoccupazioni degli autori per il fatto che la metà dei metodi per la misura del DEA-S disponibili in commercio sono poco accurati e imprecisi con conseguenze clinicamente negative. Non vediamo quindi grandi progressi da quando Chadwick *et al.*⁶³ non trovarono grandi differenze ("However, in our study there was very little difference between the methods") tra i risultati ottenuti con il loro metodo LC-MS/MS e il metodo immunometrico automatico Advantage (Nichols, San Juan Capistrano, CA, USA). Purtroppo la produzione di quell'analizzatore e di quella azienda è cessata da molti anni.

Nel 2015 il consorzio Harmoster ha confrontato sette metodi pubblicati per misurare tre androgeni tra cui il DEA in 55 volontari apparentemente sani. La variabilità analitica era elevata (22%); quattro metodi hanno dato dei risultati di DEA concordanti (pendenze delle linee di regressione 0,91-1,00) mentre 3 metodi presentavano bias

positivi rispettivamente del 12%, 16% e 41%. In assenza di un metodo di riferimento per la misura non erano possibili conclusioni.⁸¹

Fortunatamente il lavoro del consorzio sta continuando e ha condotto recentemente il primo studio sull'allineamento tra nove centri europei nella misura in doppio di tre androgeni tra cui il DEA-S in 78 campioni di pazienti (26 volontari, 13 maschi e 13 femmine) e in materiale ottenuto da Programmi di Verifica Esterna di Qualità (VEQ).⁸² I risultati sono stati ottenuti mediante calibrazione interna ed esterna. Il CVI per il DEA-S variava tra 1,6 e 10,8%, il bias era compreso entro il $\pm 20\%$ e il CVG mediano con calibrazione in house ed esterna era rispettivamente 7,2 e 4,9% ($P < 0,001$). I risultati ottenuti dai diversi laboratori nella misurazione del DEA-S impiegando la calibrazione in-house non erano confrontabili mentre quelli ottenuti impiegando la calibrazione esterna avevano qualche somiglianza. Purtroppo solo tre dei laboratori che hanno partecipato allo studio hanno misurato il DEA-S e i valori ottenuti erano spesso inferiori al Limite di Quantificazione. Lo studio non ha quindi fornito informazioni sulla armonizzazione dei metodi per la misura del DEA-S. Tale armonizzazione è risultata invece notevole, *remarkable*, per testosterone e androstenedione. Massima imprecisione accettabile (MAI), massimo bias accettabile (MAB) ed errore totale accettabile (TAE) sono risultate rispettivamente: 6,7-8,1% e 19,0%. Secondo gli autori la disponibilità di Programmi di VEQ è alla base della precisione dei metodi per la determinazione del DEA-S e il bias della misura potrebbe diminuire se diventasse disponibile, come per testosterone, un metodo di riferimento. L'utilità nella diagnostica dei programmi VEQ per gli androgeni, come per molti altri ormoni, aumenterebbe ulteriormente se la concentrazione del materiale distribuito ai laboratori avesse delle concentrazioni con maggiore interesse diagnostico per i due generi e per le diverse età.⁸²

Conclusioni

Il lavoro del Consorzio Harmoster ha dimostrato che produttori, professionisti del laboratorio e società scientifiche devono incentivare la collaborazione per migliorare la qualità dei metodi di misura dell'ormone "orfano" DEA-S e la qualità dell'informazione fornita a clinici e pazienti nel referto.

È particolarmente importante che ogni laboratorio produca dei referti di DEA che non solo contengano informazioni sulla tecnologia e sugli intervalli riferimento ma anche sull'analizzatore/reagente impiegato.

Raccomandazioni del GdS-EMM

Raccomandazione 1

Il DEA-S deve essere misurato nella diagnosi differenziale dell'adrenarca prematuro.

Raccomandazione 2

Nella diagnosi differenziale dell'iperandrogenismo può essere misurato il DEA-S.

Raccomandazione 3

Nella diagnosi di CAH può essere misurato il DEA-S.

Raccomandazione 4

Nella diagnosi di PCOS può essere misurato il DEA-S.

Raccomandazione 5

Il referto di DEA-S deve riportare l'intervallo di riferimento specifico per genere, età, metodo e/o analizzatore usato per la determinazione.

Raccomandazione 6

I laboratori che misurano e refertano il DEA-S devono disporre di una competenza adeguata e devono essere in contatto con clinici di riferimento.

Bibliografia

1. Canu G. Deidroepiandrosterone e deidroepiandrosterone solfato. *Ligandassay* 2023;28:163–8.
2. Papadopoulou-Marketou N, Kassi E, Chrousos GP. Adrenal androgens and aging; 2023 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279006/> [citato il 16 settembre 2024].
3. Attanasio R, Castello R, Dorizzi RM, Ferone D, Giagulli V, Lenzi A, *et al.* Manuale per valutazione e inquadramento delle patologie gonadiche. Udine: Associazione Medici Endocrinologi; 2009.
4. Attanasio R, Dorizzi RM, Martinelli M, Terzolo M. Manuale per valutazione e inquadramento delle patologie surrenaliche e ipertensione arteriosa endocrina. Udine: Associazione Medici Endocrinologi; 2008.
5. Kater CE, Giorgi RB, Costa-Barbosa FA. Classic and current concepts in adrenal steroidogenesis: a reappraisal. *Arch Endocrinol Metab* 2022;66:77–87.
6. Leowattana W. DHEAS as a new diagnostic tool. *Clin Chim Acta* 2004;341:1–15.
7. Parker LN. Adrenarche. *Endocrinologist* 1993;3:385–91.
8. Mayo Clinic. Dehydroepiandrosterone; 2024 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/pod/MayoTest-Catalog-Rochester--SortedByTestName-duplex-interpretive.pdf> [citato il 16 settembre 2024].
9. Mayo Clinic. Dehydroepiandrosterone Sulfate; 2024 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/pod/MayoTestCatalog-Rochester--SortedByTestName-duplex-interpretive.pdf> [citato 16 settembre 2024].
10. Bornstein SR, Allolio B, Arlt W, Barthel A, Don-Wauchope A, Ham-

- mer GD, *et al.* Diagnosis and Treatment of Primary Adrenal Insufficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2016;101:364–89.
11. Denny MC, Annamalai AK, Prankerd-Smith O, Freeman N, Vengopal K, Graggaber J, *et al.* Low DHEAS: a sensitive and specific test for the detection of subclinical hypercortisolism in adrenal Incidentalomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2017;102:786–92.
12. Teede HJ, Tay CT, Laven JJ, Dokras A, Moran LJ, Piltonen TT, *et al.* Recommendations From the 2023 International Evidence-based Guideline for the Assessment and Management of Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2023;108:2447–69.
13. Panjari M, Bell RJ, Jane F, Wolfe R, Adams J, Morrow C, *et al.* A randomized trial of oral DHEA treatment for sexual function, well-being, and menopausal symptoms in postmenopausal women with low libido. *J Sex Med* 2009;6:2579–90.
14. Labrie F, Archer D, Bouchard C, Fortier M, Cusan L, Gomez JL, *et al.* Effect of intravaginal dehydroepiandrosterone (Prasterone) on libido and sexual dysfunction in postmenopausal women. *Menopause* 2009;16:923–31.
15. Reiter WJ, Pycha A, Schatzl G, Pokorny A, Gruber DM, Huber JC, *et al.* Dehydroepiandrosterone in the treatment of erectile dysfunction: a prospective, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Urology* 1999;53:590–4, discussion 594–5.
16. Forti P, Maltoni B, Olivelli V, Pirazzoli GL, Ravaglia G, Zoli M. Serum dehydroepiandrosterone sulfate and adverse health outcomes in older men and women. *Rejuvenation Res* 2012;15:349–58.
17. Valenti G, Denti L, Maggio M, Ceda G, Volpato S, Bandinelli S, *et al.* Effect of DHEAS on skeletal muscle over the life span: the InCHIANTI study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2004;59:466–72.
18. Ravaglia G, Forti P, Maioli F, Boschi F, Cicognani A, Bernardi M, *et al.* Determinants of functional status in healthy Italian nonagenarians and centenarians: a comprehensive functional assessment by the instruments of geriatric practice. *J Am Geriatr Soc* 1997;45:1196–202.
19. Leng SX, Cappola AR, Andersen RE, Blackman MR, Koenig K, Blair M, *et al.* Serum levels of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S), and their relationships with serum interleukin-6, in the geriatric syndrome of frailty. *Aging Clin Exp Res* 2004;16:153–7.
20. Clarke BL, Ebeling PR, Jones JD, Wahner HW, O'Fallon WM, Riggs BL, *et al.* Predictors of bone mineral density in aging healthy men varies by skeletal site. *Calcif Tissue Int* 2002;70:137–45.
21. Bischoff-Ferrari HA, Orav EJ, Dawson-Hughes B. Additive benefit of higher testosterone levels and vitamin D plus calcium supplementation in regard to fall risk reduction among older men and women. *Osteoporos Int* 2008;19:1307–14.
22. Ohlsson C, Labrie F, Barrett-Connor E, Karlsson MK, Ljunggren O, Vandenput L, *et al.* Low serum levels of dehydroepiandrosterone sulfate predict all-cause and cardiovascular mortality in elderly Swedish men. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:4406–14.
23. Flynn MA, Weaver-Osterholtz D, Sharpe-Timms KL, Allen S, Krause G. Dehydroepiandrosterone replacement in aging humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:1527–33.
24. Wolf OT, Kudielka BM, Hellhammer DH, Hellhammer J, Kirschbaum C. Opposing effects of DHEA replacement in elderly subjects on declarative memory and attention after exposure to a laboratory stressor. *Psychoneuroendocrinology* 1998;23:617–29.
25. Grimley Evans J, Malouf R, Huppert F, van Niekerk JK. Dehydroepiandrosterone (DHEA) supplementation for cognitive function in healthy elderly people. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;2006:CD006221.
26. Kroboth PD, Salek FS, Pittenger AL, Fabian TJ, Frye RF. DHEA and DHEA-S: a review. *J Clin Pharmacol* 1999;39:327–48.
27. Nair KS, Rizza RA, O'Brien P, Dhataria K, Short KR, Nehra A, *et al.* DHEA in elderly women and DHEA or testosterone in elderly men. *N Engl J Med* 2006;355:1647–59.
28. Schwartz AG. Dehydroepiandrosterone, Cancer, and Aging. *Aging Dis* 2022;13:423–32.
29. Scheffers CS, Armstrong S, Cantineau AE, Farquhar C, Jordan V. Dehydroepiandrosterone for women in the peri- or postmenopausal phase. *Cochrane Database Syst Rev* 2015;1:CD011066.
30. Tritos NA. Fountain of Youth hormones; 2024 [Internet]. Disponibile alla pagina [https://www.reliantmedicalgroup.org/pdfs/Antiaging_FountainOfYouth\(HH\).pdf](https://www.reliantmedicalgroup.org/pdfs/Antiaging_FountainOfYouth(HH).pdf) [citato il 16 settembre 2024].
31. Celec P, Stárka L. Dehydroepiandrosterone - is the fountain of youth drying out? *Physiol Res* 2003;52:397–407.
32. Samaras N, Samaras D, Frangos E, Forster A, Philippe J. A review of age-related dehydroepiandrosterone decline and its association with well-known geriatric syndromes: is treatment beneficial? *Rejuvenation Res* 2013;16:285–94.
33. Morley JE. Scientific overview of hormone treatment used for rejuvenation. *Fertil Steril* 2013;99:1807–13.
34. Hauray B, Dalgalarondo S. Incarnation and the dynamics of medical promises: DHEA as a fountain of youth hormone. *Health (London)* 2019;23:639–55.
35. Higashi T. Salivary hormone measurement using LC/MS/MS: specific and patient-friendly tool for assessment of endocrine function. *Biol Pharm Bull* 2012;35:1401–8.
36. Salivary DH. 2018 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://salimetrics.com/wp-content/uploads/2018/03/diagnostic-dhea-saliva-elisa-kit.pdf> [citato il 16 settembre 2024].
37. Bio C. DRG® DHEA-S ELISA (Saliva) (SLV-4409) https://search.cosmobio.co.jp/cosmo_search_p/search_gate2/docs/DRG_SLV4409.20070126.pdf [citato il 16 settembre 2024].
38. Salivary DHEA enzyme immunoassay; 2018 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://salimetrics.com/wp-content/uploads/2018/03/dhea-saliva-elisa-kit.pdf> [citato il 16 settembre 2024].
39. SCETI. DRG® Salivary DHEA ELISA; 2024 [Internet]. Disponibile alla pagina: https://www.sceti.co.jp/images/psearch/pdf/DRG_EIA3415_p.pdf [citato il 16 settembre 2024].
40. Gröschl M. Current status of salivary hormone analysis. *Clin Chem* 2008;54:1759–69.
41. Vining RF, McGinley RA. The measurement of hormones in saliva: possibilities and pitfalls. *J Steroid Biochem* 1987;27:81–94.
42. Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo EF. Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clin Chim Acta* 2007;383:30–40.
43. Zhu C, Yuan C, Ren Q, Wei F, Yu S, Sun X, *et al.* Comparative analysis of the effects of collection methods on salivary steroids. *BMC Oral Health* 2021;21:352.
44. Ahn RS, Lee YJ, Choi JY, Kwon HB, Chun SI. Salivary cortisol and DHEA levels in the Korean population: age-related differences, diurnal rhythm, and correlations with serum levels. *Yonsei Med J* 2007;48:379–88.
45. Al-Turk W, Al-Dujaili EA. Effect of age, gender and exercise on salivary dehydroepiandrosterone circadian rhythm profile in human volunteers. *Steroids* 2016;106:19–25.
46. Plebani M. Disruptive innovations in laboratory medicine: saliva as a disruptive specimen. *Biochim Clin* 2022;46:278–8.
47. Barenghi L, Spadari F, Gianni AB, Vidali M, Ceriotti F. Challenges, possibilities, and limits of the diagnostic use. Part 1-Anatomical and basic pathophysiological aspects. *Biochim Clin* 2022;46:292–300.
48. Barenghi L, Spadari F, Gianni AB, Vidali M, Ceriotti F. Challenges, possibilities, and limits of the diagnostic use. Part 2-Anatomical and basic pathophysiological aspects. *Biochim Clin* 2023;47:12–8.
49. Heaney JL, Phillips AC, Carroll D. Ageing, physical function, and the diurnal rhythms of cortisol and dehydroepiandrosterone. *Psychoneuroendocrinology* 2012;37:341–9.
50. Miconi V, Brando B, Clerici P, Crivelli F, Curcio F, Giardini R, *et al.* The transport of biological materials: a proposal from the Italian Federa-

tion of Societies of Laboratory Medicine (FISMeLab). Riv Ital Med Lab 2019;15:70–82.

51. Laughlin GA, Barrett-Connor E. Sexual dimorphism in the influence of advanced aging on adrenal hormone levels: the Rancho Bernardo Study. J Clin Endocrinol Metab 2000;85:3561–8.

52. Parker CR Jr. Dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate production in the human adrenal during development and aging. Steroids 1999;64:640–7.

53. Orentreich N, Brind JL, Rizer RL, Vogelmann JH. Age changes and sex differences in serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations throughout adulthood. J Clin Endocrinol Metab 1984;59:551–5.

54. Prom-Wormley EC, York TP, Jacobson KC, Eaves LJ, Mendoza SP, Hellhammer D, et al. Genetic and environmental effects on diurnal dehydroepiandrosterone sulfate concentrations in middle-aged men. Psychoneuroendocrinology 2011;36:1441–52.

55. Lasley BL, Santoro N, Randolph JF, Gold EB, Crawford S, Weiss G, et al. The relationship of circulating dehydroepiandrosterone, testosterone, and estradiol to stages of the menopausal transition and ethnicity. J Clin Endocrinol Metab 2002;87:3760–7.

56. Dorizzi RM, Toniato E, Vero A, D'Amato M, Esposito JE, Pulcini R, et al. Gruppo di Studio di Diagnostica Oncologica (GdS-DO) della Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio (SIPMeL). La variabilità biologica e gli indicatori di neoplasia: un update. Riv Ital Med Lab 2023;19:11–8.

57. Ricós C, Arbós MA. Quality goals for hormone testing. Ann Clin Biochem 1990;27:353–8.

58. Minchinela J, Ricós C, Perich C, Fernández-Calle P, Alvarez V, Domenech M, et al. Biologic Variation Database; 2014 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://www.westgard.com/biodatabase-2014-update.htm> [citato il 16 settembre 2024].

59. Biological Variation Database EF. 2024 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://biologicalvariation.eu> [citato il 16 settembre 2024].

60. Garde AH, Hansen AM, Skovgaard LT, Christensen JM. Seasonal and biological variation of blood concentrations of total cholesterol, dehydroepiandrosterone sulfate, hemoglobin A(1c), IgA, prolactin, and free testosterone in healthy women. Clin Chem 2000;46:551–9.

61. Variation B. Dehydroepiandrosterone sulphate; 2024 [Internet]. Disponibile alla pagina: [https://biologicalvariation.eu/search?query=Dehydroepiandrosterone%20sulphate%20\(DHEAS\)](https://biologicalvariation.eu/search?query=Dehydroepiandrosterone%20sulphate%20(DHEAS)) [citato il 16 settembre 2024].

62. Itkonen O, Jonker N, Aarsand AK, Sandberg S, Diaz-Garzon J, Fernandez-Calle P, et al. The European biological variation study (EuBI-VAS): biological variation data for testosterone, follicle stimulating hormone, prolactin, luteinizing hormone and dehydroepiandrosterone sulfate in men. Clin Chim Acta 2024;555:117806.

63. Chadwick CA, Owen LJ, Keevil BG. Development of a method for the measurement of dehydroepiandrosterone sulphate by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Ann Clin Biochem 2005;42:468–74.

64. Lewis JG, Bason LM, Elder PA. Production and characterization of monoclonal antibodies to dehydroepiandrosterone sulfate: application to direct enzyme-linked immunosorbent assays of dehydroepiandrosterone sulfate and androsterone/epiandrosterone sulfates in plasma. Steroids 1996;61:682–7.

65. Elmlinger MW, Dengler T, Weinstock C, Kuehnel W. Endocrine alterations in the aging male. Clin Chem Lab Med 2003;41:934–41.

66. Elmlinger MW, Kühnel W, Ranke MB. Reference ranges for serum concentrations of luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH), estradiol (E2), prolactin, progesterone, sex hormone-binding globulin (SHBG), dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS), cortisol and ferritin in neonates, children and young adults. Clin Chem Lab Med 2002;40:1151–60.

67. Remer T, Pietrzik K, Manz F. Measurement of urinary androgen sulfates without previous hydrolysis: a tool to investigate adrenarche. Validation of a commercial radioimmunoassay for dehydroepiandrosterone sulfate. Steroids 1994;59:10–5.

68. Dhar TK, Müller C, Schönesöfer M. Determination of dehydroepiandrosterone sulfate in plasma by a one-step enzyme immunoassay with a microtitre plate. Clin Chem 1985;31:1876–9.

69. Krasowski MD, Drees D, Morris CS, Maakestad J, Blau JL, Ekins S. Cross-reactivity of steroid hormone immunoassays: clinical significance and two-dimensional molecular similarity prediction. BMC Clin Pathol 2014;14:33.

70. Dorizzi RM. Biotina e interferenze nei metodi immunologici; problemi e opportunità. Riv Ital Med Lab 2017;13:1–9.

71. Roche. Elecsys® DHEA-S; 2024 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/lab/elecsys-dhea-scps-000463.html> [citato il 16 settembre 2024].

72. Diasorin. LIAISON® Fertility Diagnostic Solution; 2024 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://int.diasorin.com/it/immunodiagnostica/endocrinologia/fertilita> [citato il 16 settembre 2024].

73. Coulter B. Access DHEA-S; 2024 [Internet]. Disponibile alla pagina: https://www.beckmancoulter.com/download/file/phxC64662C-EN_US/C64662C?type=pdf69 [citato il 16 settembre 2024].

74. Healthineers S. Atellica Solution Immunoassay & Clinical Chemistry Analyzers; 2023 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://www.siemens-healthineers.com/en-us/immunoassay/systems/atellica-solution-analyzers> [citato il 16 settembre 2024].

75. Friedrich N, Völzke H, Roskopf D, Steveling A, Krebs A, Nauck M, et al. Reference ranges for serum dehydroepiandrosterone sulfate and testosterone in adult men. J Androl 2008;29:610–7.

76. Kushnir MM, Blamires T, Rockwood AL, Roberts WL, Yue B, Erdogan E, et al. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay for androstenedione, dehydroepiandrosterone, and testosterone with pediatric and adult reference intervals. Clin Chem 2010;56:1138–47.

77. Fanelli F, Belluomo I, Di Lallo VD, Cuomo G, De Iasio R, Baccini M, et al. Serum steroid profiling by isotopic dilution-liquid chromatography-mass spectrometry: comparison with current immunoassays and reference intervals in healthy adults. Steroids 2011;76:244–53.

78. Fanelli F, Gambineri A, Belluomo I, Repaci A, Di Lallo VD, Di Dalmazi G, et al. Androgen profiling by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) in healthy normal-weight ovulatory and anovulatory late adolescent and young women. J Clin Endocrinol Metab 2013;98:3058–67.

79. Debeljak Ž, Marković I, Pavela J, Lukić I, Mandić D, Mandić S, et al. Analytical bias of automated immunoassays for six serum steroid hormones assessed by LC-MS/MS. Biochem Med (Zagreb) 2020;30:030701.

80. Büttler RM, Kruit A, Blankenstein MA, Heijboer AC. Measurement of dehydroepiandrosterone sulphate (DHEAS): a comparison of Isotope-Dilution Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (ID-LC-MS/MS) and seven currently available immunoassays. Clin Chim Acta 2013;424:22–6.

81. Büttler RM, Martens F, Fanelli F, Pham HT, Kushnir MM, Janssen MJ, et al. Comparison of 7 published LC-MS/MS methods for the simultaneous measurement of testosterone, androstenedione, and dehydroepiandrosterone in serum. Clin Chem 2015;61:1475–83.

82. Fanelli F, Peitzsch M, Bruce S, Cantù M, Temchenko A, Mezzullo M, et al. Report from the HarmoSter study: different LC-MS/MS androstenedione, DHEAS and testosterone methods compare well; however, unifying calibration is a double-edged sword. Clin Chem Lab Med 2024;62:1080–91.

Conflitti di interesse

Gli autori dichiarano di non avere conflitti di interesse con alcuna ditta legata al contenuto del manoscritto.

Studi condotti su esseri umani e animali

Per questo tipo di studio non è richiesto l'inserimento di alcuna dichiarazione relativa agli studi effettuati su esseri umani e animali.

Consenso informato

Per questo tipo di studio non è richiesto il consenso informato.

Ringraziamenti

Si ringraziano Federica D'Aurizio per l'attenta, competente e paziente revisione critica del manoscritto e Vito Giagulli e Renato Cozzi, Presidente della Associazione Medici Endocrinologi, per il permesso concesso di utilizzare la figura.

Cronologia

Publicato online: 14 ottobre 2024. - Accettato: 16 settembre 2024. - Ricevuto: 6 giugno 2024.

SUPPLEMENTARY DIGITAL MATERIAL 1

Principali ormoni e farmaci che influenzano la concentrazione di DEA e/o DEA-S

Ormoni naturali e sintetici

1. ACTH. In condizione di “non stress, l’ACTH prodotto dall’ipofisi anteriore è lo stimolo primario per la secrezione di DEA e DEA-S che cala negli anni.^{3,4}
2. Prolattina. Aumenta DEA e DEA-S⁵ attraverso la mediazione di recettori della prolattina nella corteccia surrenale.⁶
3. Ormoni tiroidei. Nei pazienti con ipotiroidismo le concentrazioni di DEAS e DEA risultano significativamente più basse; ciò potrebbe essere spiegato con la diminuzione della steroidogenesi surrenalica. Di converso l’attivazione della steroidogenesi nell’ipertiroidismo aumenta il DEA-S più che il DEA mediante l’attivazione della sulfotransferasi.^{7, 8}
4. Clomifene. Il clomifene con azione antiestrogenica stimola l’asse HPA; somministrato per 15 giorni aumenta DEA e DEA-S.^{9,10}
5. Danazolo. Il danazolo, impiegato nella terapia di endometriosi, mastopatia fibrocistica, angioedema ereditario, inibisce la produzione delle gonadotropine ipofisarie e ipotalamiche che aumentano il DEA-S (non il DEA per inibizione della solfatasi).¹¹
6. Desametasone. Inibisce la produzione di ACTH e di steroidi¹² abbassando il DEA-S in circolo e a livello cerebrale.¹³
7. Estrogeni e progestinici. I diversi contraccettivi orali possono causare varie alterazioni nelle gonadotropine, negli androgeni e nelle globuline leganti gli ormoni sessuali.¹⁴

Farmaci

1. Insulina e farmaci ipoglicemizzanti orali. L’insulina abbassa DEA e DEA-S aumentando la clearance metabolica.¹⁵ L’insulina aumenta il metabolismo e la velocità di eliminazione del DEA.¹⁶ La metformina diminuisce l’insulina e aumenta il DEA-S negli uomini obesi con ipertensione¹⁷ ma non sono descritti effetti su DEA e DEA-S in donne obese con irsutismo e POC¹⁸

Bibliografia

1. Salek FS, Bigos KL, Kroboth PD. The influence of hormones and pharmaceutical agents on DHEA and DHEA-S concentrations: a review of clinical studies. *J Clin Pharmacol* 2002;42:247-66.
2. Leowattana W. DHEAS as a new diagnostic tool. *Clin Chim Acta* 2004;341: 1–15.
3. Parker LN, Odell WD. Control of adrenal androgen secretion. *Endocr Rev* 1980;1:392 – 410.
4. Ohashi M, Kato K, Nawata H, Ibayashi H. Adrenocortical responsiveness to graded ACTH infusions in normal young and elderly human subjects. *Gerontology* 1986;32:43 – 51.
5. Vermeulen A, Suy E, Rubens R. Effect of prolactin on plasma DEA (s) levels. *J Clin Endocrinol Metab* 1977;44: 1222 – 5.
6. Marshall S, Gelato M, Meites J. Serum prolactin levels and prolactin binding activity in adrenals and kidneys of male rats after dehydration, salt loading, and unilateral nephrectomy. *Proc Soc Exp Biol Med* 1975;149:185 – 8.
7. Foldes J, Feher T, Feher KG, et al. Dehydroepiandrosterone sulphate (DS), dehydroepiandrosterone (D) and “free” dehydroepiandrosterone (FD) in the plasma of patients with thyroid diseases. *Horm Metab Res* 1983;15:623–4.
8. Tagawa N, Takano T, Fukata S, et al. Serum concentration of androstenediol and androstenediol sulfate in patients with hyperthyroidism and hypothyroidism. *Endocr J* 2001;48: 345 – 54.
9. Kampmann JP, Jorgensen FS, Bennett EP, Johnsen SG. Rise in dehydroepiandrosterone and oestrogens during clomiphene administration in normal men. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1976;83:166 – 72.
10. Cathro DM, Saez JM, Bertrand J. The effect of clomiphene on the plasma androgens of prepubertal and pubertal boys. *J Endocrinol* 1971;50:387 – 96.
11. Murakami K, Nakagawa T, Yamashiro G, et al. Adrenal steroids in serum during danazol therapy, taking into account cross-reactions between danazol metabolites and serum androgens. *Endocr J* 1993;40:659 – 64.
12. Redmond GP, Gidwani GP, Gupta MK, et al. Treatment of androgenic disorders with dexamethasone: dose – response relationship for suppression of dehydroepiandrosterone sulfate. *J Am Acad Dermatol* 1990; 22:91 – 3.
13. Nishida S, Matsumura S, Horino M, et al. Dexamethasone suppressibility of plasma pregnenolone or dehydroepiandrosterone in gonadectomized patients. *Steroids* 1979;34:471 – 6.
14. Moutos D, Smith S, Zacur H. The effect of monophasic combinations of ethinyl estradiol and norethindrone on gonadotropins, androgens and sex hormone binding globulin: a randomized trial. *Contraception* 1995;52:105 – 9.
15. Lavalley B, Provost PR, Kahwash Z, et al. Effect of insulin on serum levels of dehydroepiandrosterone metabolites in men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1997;46:93 – 100.
16. Nestler JE, Kahwash Z. Sex-specific action of insulin to acutely increase the metabolic clearance rate of dehydroepiandrosterone in humans. *J Clin Invest* 1994;94:1484 – 9. Nestler JE. Regulation of human dehydroepiandrosterone metabolism by insulin. *Ann N Y Acad Sci* 1995;774:73-81.
17. Nestler JE, Beer NA, Jakubowicz DJ, Beer RM. Effects of a reduction in circulating insulin by metformin on serum dehydroepiandrosterone sulfate in nondiabetic men. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:549 – 54.
18. Morin-Papunen LC, Koivunen RM, Ruokonen A, Martikainen HK. Metformin therapy improves the menstrual pattern with minimal endocrine and metabolic effects in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1998;69:691– 6.