

Pruebas dinámicas en endocrinología pediátrica: pubertad precoz central

Carolina Jaramillo Arango¹, Germán Campuzano Maya²,
Vital Balthazar González³, Juan Manuel Alfaro Velásquez⁴

Resumen: la pubertad precoz se define como el inicio de la pubertad antes de los 8 años en las niñas y de los 9 años en los niños; sin embargo, hay factores que pueden afectar el inicio de la pubertad, como son la raza, el bajo peso al nacer y la obesidad. Los cambios físicos tempranos característicos del comienzo de la pubertad aparecen como resultado de la producción de hormonas sexuales como consecuencia de la activación del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal. El inicio de la pubertad comienza con el desarrollo de las mamas en las niñas y con el aumento del tamaño testicular en los niños. La pubertad precoz se clasifica como central, también llamada dependiente de hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH), y tema central de esta revisión, o como periférica, también llamada independiente de GnRH. El primer paso en la evaluación del paciente con sospecha de pubertad precoz consiste en obtener una cuidadosa y detallada historia familiar y del paciente, seguida de una evaluación física completa. El diagnóstico de pubertad precoz se basa en estudios imagenológicos y en pruebas de laboratorio. La prueba de estimulación con GnRH se considera como la prueba de oro para evaluar la activación del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal; los picos de LH o de FSH y el pico de la relación LH/FSH pueden ser utilizados para evaluar la respuesta al estímulo.

Palabras clave: pubertad precoz, etiología, clasificación, diagnóstico, pruebas dinámicas.

Jaramillo-Arango C, Campuzano-Maya G, Balthazar-González V, Alfaro-Velásquez JM. Pruebas dinámicas en endocrinología pediátrica: pubertad precoz central. *Medicina & Laboratorio* 2009; 15: 311-327.

Módulo 1 (La clínica y el laboratorio), número 75. Editora Médica Colombiana S.A., 2009[®].

Recibido el 1 de julio de 2009; aceptado el 16 de julio de 2009.

El uso y la interpretación de los datos de laboratorio en endocrinología se deben realizar en el contexto del problema individual de cada paciente. Las alteraciones de la pubertad en los niños como la pubertad precoz, es uno de los problemas clínicos de mayor reto diagnóstico, debido a que algunas de las pruebas utilizadas son equívocas y a menudo difíciles de interpretar. La valoración de la maduración del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal, basado en la concentración de gonadotrofinas por algunos métodos disponibles (como el radioinmunoensa-

¹ Médica especialista en Pediatría, Residente de II año de Endocrinología Pediátrica, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. E-mail: cjaramilloarango@gmail.com

² Médico especialista en Hematología y Patología Clínica. Docente, *Ad Honorem*, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Médico Director, Laboratorio Clínico Hematológico. Carrera 43C No. 5-33, Medellín, Colombia. E-mail: gcampuzano@hematologico.com

³ Médico especialista en Pediatría y Endocrinología. Docente Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. E-mail: vitalbalthazar@une.net.co

⁴ Médico especialista en Pediatría y Endocrinología. Docente Endocrinología Pediátrica, Coordinador de la subespecialidad en Endocrinología Pediátrica. Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. E-mail: alfarojm@yahoo.com

yo), son en ocasiones no concluyentes, ya que los niveles prepuberales y puberales de hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH) se superponen. En la actualidad se dispone de pruebas de tercera generación para la medición de niveles de gonadotrofinas basales y postestímulo con hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH), para las cuales y según el método utilizado, se hace necesario conocer los valores de referencia. La pubertad precoz debe identificarse a tiempo y esclarecer su etiología, ya que algunos casos pueden ser el resultado de condiciones severas como un tumor cerebral. En este módulo se hará una descripción de los aspectos más importantes de la pubertad precoz, haciendo énfasis en la pubertad precoz central y las pruebas dinámicas para su diagnóstico.

Pubertad y el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal

El período prepuberale normal se caracteriza por unas concentraciones bajas de gonadotrofinas y de esteroides sexuales. Una vez comienza la pubertad, el hipotálamo inicia la secreción pulsátil de GnRH. En respuesta a esta hormona, las células del gonadotropo en la hipófisis anterior liberan hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH). Los esteroides sexuales (estrógenos, progesterona y testosterona) y algunos péptidos, como las inhibinas de origen gonadal y las activinas y folistatinas de origen hipofisario, modifican a su vez la secreción de gonadotrofinas por mecanismos de retroalimentación, como se observa en la **figura 1** [1-4].

La LH estimula la producción de androstenediona por las células de la teca en el ovario y de testosterona por las células de Leydig en los testículos, mientras que la FSH induce la activación de la aromataasa en las células de la granulosa del ovario para la síntesis de estradiol, y en los testículos promueve el crecimiento de las células de Sertoli y de la secreción de sustancias para la espermatogénesis [5].

Los mecanismos de retroalimentación del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal se maduran inicialmente durante la vida fetal, el patrón de secreción pulsátil de gonadotrofinas se desarrolla por estímulo de la GnRH. Esta liberación fetal de gonadotrofinas persiste hasta el período neonatal, cuando es atenuada por mecanismos de retroalimentación negativos que predominan durante la niñez, con una secreción mínima de GnRH y gonadotrofinas especialmente de LH, por lo que los niveles de FSH se encuentran relativamente más altos que los niveles de LH, especialmente en la niñas, durante esta época del desarrollo [6-7].

El inicio de la pubertad es posible por la secreción episódica de GnRH, inicialmente con un patrón acentuado durante el sueño, el cual se va incrementando en frecuencia y amplitud a lo largo de las 24 horas del día. Los mecanismos involucrados en el control e iniciación de los pulsos de GnRH aún no están completamente esclarecidos, pero parecen ser derivados del balance entre neurotransmisores estimuladores e inhibidores: acetilcolina, catecolaminas, ácido gamma aminobutírico (GABA), prostaglandinas y serotonina [8].

Actualmente se reconocen otra cantidad importante de factores metabólicos, los cuales se han propuesto como reguladores nutricionales de la reproducción en roedores y primates, pero su función en el inicio puberal no ha sido estudiada específicamente; ellos son: insulina, ghrelina, péptido similar a la galanina, glucosa y ácidos grasos libres [9]. Adicionalmente, se ha encontrado una relación positiva entre la obesidad y el inicio temprano del desarrollo puberal en las niñas y se ha propuesto que la leptina tenga un papel importante en este aspecto; sin embargo, su mecanismo molecular en el eje reproductivo aún no se conoce [10].

Durante los últimos años se ha centrado la atención en el estudio de factores genéticos y moleculares involucrados en el control del desarrollo puberal. Algunos ejemplos recientemente descritos son las kisspeptinas y su receptor GPR54, el gen KAL2 y el receptor para el factor de

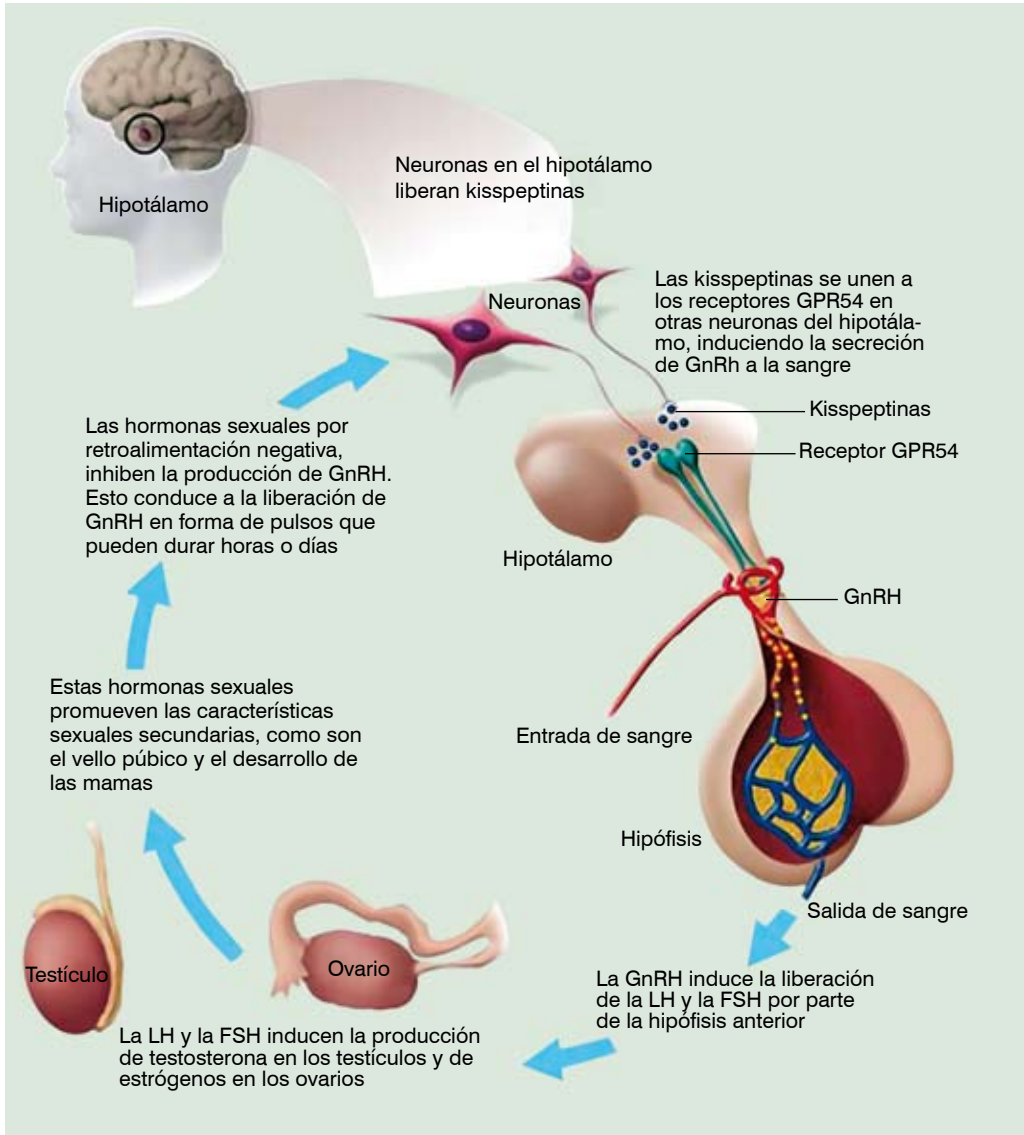


Figura 1. Función del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal en el desarrollo de la pubertad.

crecimiento de fibroblastos tipo 1 (FGFR-1). Luego de algunos experimentos en ratones *knockout*, se ha observado que las kisspeptinas son necesarias para la liberación pulsátil de GnRH [11]; sin embargo, otros estudios demuestran que la señalización por medio del receptor GPR54 no es necesaria para que ocurra el pico de LH en respuesta a niveles de retroalimentación positiva de estrógenos [12]. El GPR54 es miembro de la familia de receptores acoplados a proteína G, cuya estimulación por un ligando puede ser disminuida en el tiempo, fenómeno conocido como desensibilización. Recientemente se estudió el caso de un niño con pubertad precoz central, en quien se encontró una mutación en el gen que codifica para este receptor. Esta mutación causaba una pérdida de la desensibilización del GPR54 y sus vías de señalización, llevando a una activación prolongada del eje reproductivo, convirtiéndose en el primer estudio en el cual se identifica una causa molecular para la pubertad precoz central [13].

Pubertad precoz

Definición

La pubertad precoz se define como la aparición de caracteres sexuales secundarios antes de los 8 años en las niñas y de los 9 años en los niños; si bien este límite de edad cronológica ha sido sujeto de discusión, es hasta ahora el más aceptado y utilizado por el último consenso de la Sociedad de Endocrinología Pediátrica Lawson Wilkins y la Sociedad Europea de Endocrinología Pediátrica para el tratamiento de la pubertad precoz [14]. Sin embargo; cabe anotar que el inicio de la pubertad se ha ido acelerando de manera significativa durante los últimos años. Diferentes estudios alrededor del mundo demuestran que la edad del inicio de la pubertad puede cambiar según la raza, la localización geográfica, las condiciones ambientales y la nutrición [15-16].

La pubertad precoz es una entidad predominantemente femenina. La incidencia de pubertad precoz se calcula en 1/5.000 a 1/10.000 pacientes, con una relación mujer: hombre de 10:1 [17, 18].

Clasificación

Los cambios físicos tempranos de la pubertad son consecuencia de los efectos mediados por las hormonas sexuales, ya sea por activación del eje hipotálamo–hipófisis–gonadal o por el aumento de dichas hormonas por vías no hipotalámicas [8]. La primera categoría se define como pubertad precoz central o verdadera (dependiente de gonadotropinas), y la segunda se define como pubertad precoz periférica (no dependiente de gonadotropinas) [8, 19].

Adicionalmente, existen tres variantes del desarrollo puberal prematuro [20]:

- **Telarquia precoz aislada:** representa el crecimiento aislado de una o ambas mamas sin otro signo de secreción estrogénica. Se considera una entidad benigna la cual puede presentarse desde el nacimiento hasta los tres años, con regresión espontánea en algunos meses o persistiendo hasta la pubertad. El seguimiento de estas pacientes es obligatorio, ya que hasta un 14% de ellas pueden desarrollar una pubertad precoz completa. La edad ósea y la velocidad de crecimiento en estas pacientes son adecuadas [21-22].
- **Pubarquia precoz aislada:** se caracteriza por la aparición de vello púbico antes de los 8 años en las niñas y de los 9 años en los niños, se puede observar también vello axilar, velocidad de crecimiento acelerada y un sutil avance en la edad ósea. Son condiciones precipitantes: el antecedente de prematuridad, el bajo peso para la edad gestacional y la obesidad infantil [23].
- **Menarquia precoz aislada:** se presenta con sangrado vaginal antes de los 8 años sin otros signos puberales ni edad ósea avanzada. No se presentan con un carácter cíclico y los niveles de gonadotropinas y estradiol se encuentran en rangos prepuberales. Debe descartarse posibles alteraciones por trauma o manipulación [20].

Pubertad precoz central

La pubertad precoz central o verdadera, también conocida como dependiente de gonadotropinas, se diagnostica si los cambios físicos y las pruebas de laboratorio son consistentes con los cambios progresivos de la pubertad normal, sólo que a una edad temprana. La mayoría de las pubertades precoces en niñas pertenecen a este tipo y usualmente no hay una anomalía neurológica asociada a diferencia de lo que sucede en los niños, en quienes hasta el 20% pueden tener una lesión del sistema nervioso central [24].

Etiología en niñas

La activación temprana del eje hipotálamo–hipófisis–gonadal puede resultar de tumores u otras alteraciones en el sistema nervioso central, que trastornen el balance entre los factores inhibidores y estimuladores que gobiernan el inicio y el desarrollo puberal; esta forma de pubertad precoz tiende a ser más frecuente en niñas menores de 4 años. En muchos casos de pubertad precoz neurogénica, la lesión del sistema nervioso central es debida a una enfermedad previamente diagnosticada, pero también puede ser el primer síntoma de una patología congénita o tumoral [25].

La activación del eje también puede ocurrir en ausencia de una causa identificable, en cuyo caso se denomina pubertad precoz central idiopática. Anteriormente se consideraba idiopática en el 90% de los casos; en la actualidad la incidencia de una alteración demostrable del sistema nervioso central se hace más frecuente según mejoran las técnicas de imágenes, así algunos estudios refieren como causa idiopática hasta un 74% de los casos [17, 19]. La frecuencia de pubertad precoz central idiopática tiende a ser mayor en niñas entre los 7 a 8 años de edad.

En la **tabla 1** se enuncian las principales causas de pubertad precoz central en niñas.

Etiología en niños

A diferencia de las niñas, la causa más común de pubertad precoz central en varones es la forma orgánica. En ellos el hamartoma hipotalámico es el tumor que con mayor frecuencia desencadena la pubertad precoz; se comporta como un generador ectópico de pulsos de GnRH independiente de los factores inhibidores normales del sistema nervioso central. En la resonancia magnética se detecta una masa de similar intensidad al hipotálamo, es un tumor de diámetro variable en su mayoría comprendido entre 4 mm y 25 mm, que en general no aumenta de tamaño a lo largo del tiempo [26].

La irradiación intracraneal y otras lesiones orgánicas alteran los ritmos inhibitorios de los pulsos de GnRH, en tanto que otros factores actúan directamente en el hipotálamo o incrementan la presión intracraneana.

En la **tabla 2** se enuncian las principales causas de pubertad precoz central en niños.

Evaluación clínica

Una cuidadosa historia clínica es muy importante para poder llegar a un diagnóstico correcto. Se debe investigar la edad de inicio de los caracteres sexuales secundarios, ingesta o aplicación de agentes hormonales

Tabla 1. Etiología de la pubertad precoz central en niñas [17]

Orgánica (alteración del sistema nervioso central)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hidrocefalia ▪ Hamartoma hipotalámico ▪ Microadenoma hipofisario ▪ Pinealoma, ependimoma ▪ Neurofibromatosis ▪ Agenesia del cuerpo calloso ▪ Astrocitoma ▪ Síndrome de Van Wyk-Grumbach ▪ Otras causas: encefalitis, encefalocele, hemorragia intracraneal, malformaciones vasculares, tumores del IV ventrículo, silla turca vacía
Idiopática	

Tabla 2. Etiología de la pubertad precoz central en niños [17]

Orgánica (alteración del sistema nervioso central)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hamartoma hipotalámico ▪ Neurofibromatosis ▪ Meningitis con o sin hidrocefalia ▪ Radioterapia ▪ Craneofaringioma ▪ Ependimoma, pinealoma, astrocitoma ▪ Infección congénita por citomegalovirus ▪ Síndrome de Van Wyk-Grumbach ▪ Otras causas: encefalitis, encefalocele, hemorragia intracraneal, malformaciones vasculares, tumores del IV ventrículo, silla turca vacía
Idiopática	

exógenos, alteraciones visuales, labilidad emocional u otros cambios neurológicos asociados o derivados de otras endocrinopatías. Se debe averiguar sobre los datos familiares referente a la talla de los padres, su edad de inicio puberal y enfermedades de presentación familiar [3].

En las niñas, el primer signo de desarrollo sexual es la aparición del botón mamario seguido por el vello púbico y el sangrado vaginal, aunque este orden puede variar. El examen físico se realizará en presencia de un familiar o personal médico auxiliar, minimizando las molestias que este tipo de exploración pueda producir en las pacientes. El desarrollo puberal se clasifica según los estadios de Tanner (ver **tabla 3**); la evaluación de los genitales en las niñas debe incluir la inspección de la mucosa vaginal, secreciones y otros signos de impregnación estrogénica [8, 19].

En los niños, el tamaño testicular debe ser determinado por su volumen o eje longitudinal; un tamaño testicular de más de 3 mL de volumen sugiere estímulo por gonadotrofinas o pubertad precoz central. La asimetría marcada de los testículos o el aumento unilateral pudieran ser secundarios a un tumor de células de Leydig o a una hiperplasia de restos adrenales.

En ambos sexos, el examen físico debe incluir la medida cuidadosa de la talla, peso, índice de masa corporal, envergadura, relación de segmento superior y segmento inferior. La determinación de la velocidad de crecimiento y su comparación con estándares apropiados son útiles para evaluar la presencia del estirón puberal que precede o acompaña el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios. Se debe investigar la presencia de acné, la distribución del vello corporal, el olor apocrino y la distribución de la grasa corporal; además, se debe palpar la tiroides, el abdomen y se debe buscar pigmentación cutánea que sugiera otros tipos de pubertad precoz, como el síndrome de McCune-Albright [26].

Diagnóstico

Las pruebas para el diagnóstico de pubertad precoz se basan en estudios radiológicos y análisis de laboratorio, y van a depender de varios factores como son la edad del paciente, el género, la velocidad de crecimiento y la aparición de los caracteres sexuales secundarios. Cada paciente debe evaluarse de manera independiente y las pruebas diagnósticas a realizar deben pensarse teniendo en cuenta cada caso; por ejemplo, un niño que presente deficiencias neurológicas concomitantes requiere un análisis imagenológico con más urgencia que un niño que no las presente [3]. Por su parte, los análisis de laboratorio deberán mostrar el nivel de activación de las gonadotrofinas y esteroides sexuales, y la respuesta a las pruebas de estimulación con GnRH. También podrán ser necesarias otras pruebas que puedan ser de utilidad en el diagnóstico diferencial, como son los estudios tiroideos, los niveles de dehidroepiandrosterona (DHEA) y 17-hidroxi-progesterona, la prueba de estimulación con cosintropina [27] y los niveles de gonadotropina coriónica [28], entre otras.

Diagnóstico por imágenes

Las pruebas de imagenología son de gran utilidad en el diagnóstico de pubertad precoz, ya que pueden identificar una posible causa, ayudar en el diagnóstico diferencial de las variantes del desarrollo puberal prematuro y evaluar la efectividad del tratamiento [29].

Edad ósea

La edad ósea se determina mediante una radiografía carpo falángica y se utilizan distintos métodos de valoración, en nuestro medio el más comúnmente conocido es el de Greulich y Pyle [30]. Una edad ósea significativamente avanzada, una velocidad de crecimiento acelerada junto con el inicio temprano y progresión puberal, constituyen la base para la sospecha diagnóstica. En todos los casos de pubertad precoz, la edad ósea se encuentra avanzada en relación con la edad

Tabla 3. Estadios de Tanner. Desarrollo de los caracteres sexuales secundarios

Niñas	
Desarrollo mamario	Desarrollo del vello pubiano
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 1 (S1) Mamas infantiles. Sólo el pezón está ligeramente sobreelevado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 1 (P1) Ligera vellosidad infantil
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 2 (S2) Brote mamario. Las areolas y pezones sobresalen como un cono. Esto indica la existencia de tejido glandular subyacente. Aumento del diámetro de la areola 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 2 (P2) Vello escaso, lacio y ligeramente pigmentado, usualmente a lo largo de los labios
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 3 (S3) Continuación del crecimiento con elevación de mama y areola en un mismo plano 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 3 (P3) Vello rizado, aún escasamente desarrollado, pero oscuro, claramente pigmentado, sobre los labios
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 4 (S4) La areola y el pezón pueden distinguirse como una segunda elevación, por encima del contorno de la mama 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 4 (P4) Vello pubiano de tipo adulto, pero no con respecto a la distribución (crecimiento del vello hacia los pliegues inguinales, pero no en la cara interna de los muslos)
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 5 (S5) Desarrollo mamario total. La areola se encuentra a nivel de la piel, y sólo sobresale el pezón (Nota: en algunos casos, la mujer adulta puede mantenerse en estadio 4) 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 5 (P5) Desarrollo de la vellosidad adulta con respecto a tipo y cantidad; el vello se extiende en forma de un patrón horizontal, el llamado femenino, (también en la cara interna de los muslos). En el 10% de los casos, se extiende por fuera del triángulo pubiano (estadio 6)
Niños	
Desarrollo genital	Desarrollo del vello pubiano
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 1 (G1) Pene, escroto y testículos infantiles; es decir, de aproximadamente el mismo tamaño y forma que en la infancia 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 1 (P1) Ligera vellosidad infantil
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 2 (G2) Agrandamiento de escroto y testículos. La piel escrotal se vuelve más roja, delgada y arrugada. El pene no tiene ningún agrandamiento o muy insignificante 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 2 (P2) Vello escaso, lacio y ligeramente pigmentado, usualmente arraigado al pene
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 3 (G3) Agrandamiento del pene, principalmente en longitud. Continuación del desarrollo testicular y escrotal 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 3 (P3) Vello rizado, aún escasamente desarrollado, pero oscuro, claramente pigmentado, arraigado al pene
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 4 (G4) Aumento de tamaño de pene con crecimiento de diámetro y desarrollo del glande. Continuación de agrandamiento de testículos y escroto. Aumento de la pigmentación de la piel escrotal 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 4 (P4) Vello pubiano de tipo adulto, pero con respecto a la distribución (crecimiento del vello hacia los pliegues inguinales, pero no en la cara interna de los muslos)
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 5 (G5) Genitales de tipo y tamaño adulto 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estadio 5 (P5) Desarrollo de la vellosidad adulta con respecto a tipo y cantidad; el vello se extiende en forma de un patrón horizontal, el llamado femenino (el vello crece también en la cara interior de los muslos). En el 80% de los casos, el crecimiento del vello continúa hacia arriba, a lo largo de la línea alba (estadio 6)

cronológica, excepto en los casos de hipotiroidismo. La edad ósea debe estimarse en el estudio inicial del paciente y se repetirá según la evolución clínica cada 6 a 12 meses para comprobar la velocidad de progresión y la eficacia de los tratamientos iniciados [26].

Ecografía pélvica

La ecografía pélvica es una herramienta de fácil realización que permite evaluar las dimensiones ováricas y uterinas, la relación cuerpo/cérvix y el engrosamiento endometrial; adicionalmente, puede mostrar la presencia de masas y quistes foliculares [31]. Un volumen uterino mayor de 2 mL tiene una sensibilidad de 88,8% y una especificidad de 89,4% para el diagnóstico de pubertad precoz, mientras que para una longitud uterina mayor de 3,4 cm, los valores reportados son de 80,2% y 57,8%, respectivamente [18, 32]. La presencia de eco endometrial es muy específica (100%), pero menos sensible (42% a 87%) [14].

Un estudio llevado a cabo por de Vries y colaboradores, encontró que la circunferencia ovárica (mayor de 4,5 cm) en comparación con el volumen, es un parámetro que refleja con mayor precisión el tamaño del ovario, con sensibilidad de 66% y especificidad de 85,7%, lo que permitió concluir que los parámetros uterinos contribuyen mejor al diagnóstico de pubertad precoz que los parámetros ováricos [32].

Ecografía testicular

La ecografía testicular puede detectar tumores de células de Leydig no palpables y debe ser realizado en aquellos pacientes en quienes se encuentre que el volumen testicular es asimétrico o se sospeche pubertad precoz periférica [33-34].

Resonancia magnética de sistema nervioso central

La resonancia magnética permite buscar lesiones del sistema nervioso central y hace parte del estudio aun en ausencia de hallazgos neurológicos. Tradicionalmente se ha indicado en todos los niños y en las niñas menores de 6 años, pues se ha encontrado que del 2% al 7% de las niñas con pubertad precoz central de inicio entre los 6 y 8 años tienen una patología no sospechada y sólo 1% de ellas tienen como diagnóstico un tumor como el glioma o el astrocitoma. Mientras que el 40% de los niños presentan alteraciones intracraneales en ausencia de síntomas [24].

Algunos factores asociados con menor probabilidad de encontrar un tumor son la adopción [35-36], antecedentes familiares de pubertad precoz central y los pacientes de raza negra [8, 14].

Diagnóstico por el laboratorio

Las pruebas de laboratorio para el estudio del paciente con pubertad precoz son de gran utilidad y el clínico debe saber interpretar sus resultados en una forma apropiada de acuerdo con el contexto clínico de cada paciente. A continuación se describen las pruebas hormonales de mayor uso en el estudio del paciente con pubertad precoz.

Niveles basales de gonadotrofinas

Existen múltiples métodos disponibles para la medición de gonadotrofinas, y los valores “normales” deben ser establecidos para cada método.

Algunos investigadores han comparado las pruebas basales hormonales con métodos más sensibles con el fin de evitar el uso de la prueba de estimulación con GnRH para el diagnóstico

de la pubertad precoz. Sin embargo, en ciertas circunstancias las pruebas dinámicas se hacen indispensables; por ejemplo, en los niños prepuberales los valores basales de LH y FSH se sobreponen con los valores de niños puberales cuando se utilizan métodos menos sensibles como el radioinmunoensayo (RIA). Los métodos más recientes para la medición de gonadotropinas se basan en ensayos inmunofluorométricos e inmunoquimioluminométricos; este último con mayor precisión, sensibilidad y reproducibilidad, según algunos autores [37].

Se ha descrito de manera consistente la utilidad de la medición de la LH basal por técnicas de tercera generación para el estudio de pacientes con sospecha de pubertad precoz central. En la **tabla 4** se resumen los valores de corte obtenidos por diferentes autores.

Tabla 4. Valores basales de LH por diferentes métodos que indican maduración del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal

Autores	Punto de corte	Método
Houk CP et al [38]	> 1,05 UI/L	ICMA*
Resende EA et al [37]	> 0,2 UI/L (niñas) > 0,3 UI/L (niños)	ICMA
Brito VN et al [39]	> 0,6 UI/L	IFMA
Neely EK et al [40]	> 0,3 UI/L	ICMA**

* Sensibilidad y especificidad del 100%.
 ** Sensibilidad del 100%.
 Convenciones: ICMA: ensayo inmunoquimioluminométrico; IFMA: ensayo inmunofluorométrico.

Algunos de estos estudios mostraron cómo los valores de LH se sobreponen en las niñas, independiente del método utilizado, sugiriendo así la necesidad de confirmar los hallazgos mediante la prueba de estimulación con GnRH; en los niños, esto no fue necesario [37, 39].

Con respecto a las mediciones basales de FSH, se ha confirmado por diferentes métodos su poca utilidad para diferenciar valores prepuberales y puberales. La importancia de su medición está más relacionada con las diferencias del perfil hormonal en estos dos grupos de pacientes, en quienes una disminución de FSH y un aumento de LH ocurren simultáneamente, lo cual confirma que la FSH es la hormona predominante durante el período prepupal mientras que la expresión de LH aumenta durante la pubertad [41].

Estradiol sérico

Los valores prepuberales de estradiol pueden llegar a ser menores de 1pg/mL si se miden por la técnica espectrometría de masas, la cual hasta el momento ha demostrado ser el método más sensible. En caso de detectarse algún nivel de estradiol por medio de otras pruebas diferentes a la espectrometría, sólo se confirma un avance “relativo” de la pubertad [42].

Brito y colaboradores encontraron que los niveles basales de estradiol no fueron útiles para diferenciar entre pubertad precoz y pubarquia o telarquia precoz aisladas [39]. En general se acepta que los niveles séricos de estradiol tienen poca sensibilidad para el diagnóstico de pubertad precoz; sin embargo, valores altos mayores de 100 pg/mL son compatibles con quistes o tumores ováricos asociados a pubertad precoz periférica [18].

Testosterona

Las pruebas de medición de testosterona con niveles de detección mayores de 10 ng/dL pueden no discriminar entre niveles prepuberales y puberales incipientes. Se recomiendan métodos con niveles de detección menores. Los intervalos de referencia deben ser ajustados para la edad y el estadio Tanner de desarrollo puberal [43].

Pruebas dinámicas para el diagnóstico de pubertad precoz central

Las pruebas de estimulación que ayudan a determinar el estadio puberal se basan en la capacidad de la hipófisis de responder a la estimulación con GnRH produciendo LH y FSH, siendo mayor la respuesta de la FSH [44-45]. También es frecuente que se utilice la relación LH/FSH como un indicador del estadio de desarrollo puberal; una relación menor de 1 es característica de la infancia, en tanto que una relación mayor de 1 es típica de la pubertad [46].

Prueba de estimulación con GnRH

Es considerado como el método de referencia para la confirmación de la pubertad precoz central. Los cambios hormonales observados en los pacientes con pubertad precoz son similares a los observados durante la pubertad normal, sólo que se presentan más temprano: aumento de la liberación pulsátil de la LH, especialmente nocturna, aumento en la respuesta de la LH a GnRH y elevación de esteroides sexuales. La hipótesis más aceptada para explicar la activación prematura del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal es que se produce una destrucción de las vías hipotalámicas inhibitorias con activación prematura de la secreción de GnRH en el núcleo arqueado [26], por lo cual los pacientes con sospecha de pubertad precoz central presentan una respuesta a la prueba con hipergonadotropismo a diferencia de los pacientes con pubertad precoz periférica.

La prueba de estimulación con GnRH también se utiliza para monitorizar el tratamiento con análogos de GnRH, y para evaluar el grado de daño causado por la irradiación y la quimioterapia en pacientes con leucemia y tumores cerebrales [47].

Preparación del paciente

Aunque no es requerido, algunos médicos solicitan ayuno durante la noche y que la prueba sea realizada en la mañana, ya que la mayoría de los datos de estudios para determinar los valores normales han sido recogidos de esta manera.

Prueba de GnRH intravenosa

Para esta prueba se administran 2,5 µg/kg, máximo 100 µg de GnRH (Factrel® de Ayerst) en inyección IV rápida [48]. Se toman dos muestras basales de LH y FSH: 15 minutos antes (tiempo -15) e inmediatamente previo a la aplicación del medicamento (tiempo 0). Las muestras postestímulo se obtienen a los 15, 30, 45, 60 y 90 minutos [47], aunque existen otros protocolos en los cuales sólo se toman muestras post GnRH a los 30, 60, 90 y 120 minutos [46].

Interpretación

Los niveles de LH postpuberales aumentan de 6 a 10 veces y los de FSH de 4 a 6 veces. Una relación pico de LH/FSH mayor de 0,66 por radioinmunoanálisis (RIA) predice pubertad en el 96% de los casos sin falsos positivos y ha demostrado ser un indicador preciso. Una relación pico LH/FSH mayor de 0,3, determinada por métodos de tercera generación (ensayo inmunoquimioluminométrico o ensayo inmunofluorométrico) indica el inicio de la pubertad en mujeres. La **tabla 5** resume los valores de referencia para la LH postestímulo, según diferentes autores, y la **figura 2** la respuesta de las hormonas LH y FSH postestímulo en niñas en edad prepúber y púber.

Tabla 5. Valores de LH postestimulación con GnRH que indican maduración del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal

Autor	Prueba	Método	Pico LH (min)	Valor de LH (UI/L)
Neely EK et al [46]	LH post GnRH 0, 30, 60, 120 minutos	ICMA	30	> 7,9 UI/L
Cavallo A et al [49]	LH post GnRH 0, 15, 30, 45, 60 minutos	IRMA	30 a 60	> 15 UI/L
Eckert KI et al [50]	LH post GnRH 40 minutos	ICMA	40	> 8 UI/L
Brito VN et al [39]	LH post GnRH -15, 0, 15, 30, 45 y 60 minutos	IFMA	30 a 45	> 6,9 UI/L (niñas) > 9,6 UI/L (niños)
Resende et al [37]	LH post GnRH -15, 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos	IFMA	30 a 45	> 4,2 UI/L (niñas) > 3,3 UI/L (niños)
		ICMA		> 3,3 UI/L (niñas) > 4,1 UI/L (niños)

Nota: los estudios también incluyeron mediciones basales y estimuladas de FSH; sin embargo, los autores concuerdan en la poca utilidad que tiene la medición de esta hormona, ya que sus valores puberales se sobreponen con los valores prepuberales, como se explicó anteriormente.

Convenciones: ICMA: ensayo inmunoquimioluminométrico; IFMA: ensayo inmunofluorométrico; IRMA: ensayo inmuno-radiométrico.

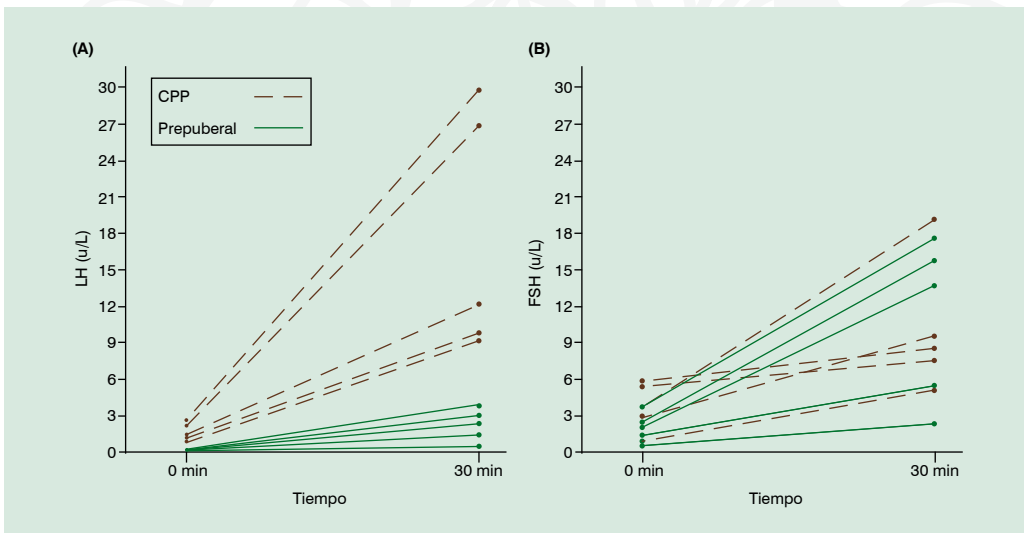


Figura 2. Prueba de estimulación con GnRH en la que se aprecian diferentes respuestas de la LH y la FSH en varias niñas en edad prepúber y púber. Nótese como los niveles basales de FSH se sobreponen con los niveles post-estimulación, lo que limita su utilidad clínica [8].

Prueba de GnRH subcutánea

Se aplican 100 µg subcutáneos de GnRH (Factrel® de Ayerst) y se toman muestras de LH y FSH a los -15, 0 y 40 minutos postadministración de GnRH [48].

Interpretación

Eckert y colaboradores encontraron una correlación significativa de los valores de LH determinados por estímulo intravenoso y subcutáneo. Hacen referencia a un valor de LH mayor de 8 U/L por ensayo inmunoquimioluminométrico a los 40 minutos para diagnóstico de pubertad precoz; niveles entre 5 y 8 U/L son sugestivos y advierten la necesidad de seguimiento [50].

Prueba alternativa con LHRH

Debido a la poca disponibilidad del Factrel®, se han desarrollado diferentes protocolos utilizando análogos de GnRH; sin embargo, no existe hasta el momento un consenso acerca del uso de estos medicamentos. En nuestro medio se consigue la LHRH (Leuteoliberina® de Elea). Esta hormona es un decapeptido con una secuencia de aminoácidos idéntica a la GnRH natural, que estimula la liberación de LH por la hipófisis anterior y también de FSH pero en menor grado.

Preparación

Para la preparación de los pacientes se tienen en cuenta las mismas consideraciones que para la prueba de estimulación con GnRH.

Medicamento

Se aplican 100 µg (1 ampolla) de Luteoliberina® en forma subcutánea o intravenosa. Se dosifican los niveles de LH y FSH basales, y a los -15, 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos. Los niveles basales se deben promediar con las cifras de los -15 minutos y con la obtenida inmediatamente antes de administrar el medicamento (tiempo 0). Se puede utilizar también otro análogo de la GnRH como el acetato de leuprolide (Lupron® de Abbott), que se administra a una dosis subcutánea de 20 µg/kg, máximo 500 µg, y se toman muestras de gonadotropinas a las tres horas después de la inyección.

Interpretación

Los valores de referencia de esta prueba varían con la técnica utilizada y usualmente se utilizan los mismos que cuando se administra la GnRH (**tabla 5**). Si se aplica la relación LH/FSH, con los métodos ultrasensibles, un valor superior a 0,3 (por ensayo inmunoquimioluminométrico) o a 0,35 (ensayo inmunofluorométrico) en mujeres, tiene 100% de especificidad para el diagnóstico de pubertad precoz central. En los niños, es más difícil establecer un punto de corte para la relación LH/FSH y se aconseja como criterio de inicio de la pubertad un aumento de la LH de 25 UI/mL con respecto al valor pre-estimulación. En los menores de 2 años debe tenerse cuidado con la interpretación de esta prueba, ya que a esta edad aún puede persistir cierto grado de activación fisiológica del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal [51-52].

En el **tabla 6** se enuncian las pruebas de laboratorio disponibles en nuestro medio para el estudio del paciente con pubertad precoz, y en las **figuras 3 y 4** se observan unos algoritmos para el estudio de los niños y niñas en quienes se sospeche pubertad precoz, respectivamente.

Conclusiones

La pubertad precoz se caracteriza por la aparición temprana y el progreso de los cambios físicos en los niños. Se debe tener en cuenta que hay factores que inciden en el inicio de la pubertad, como es la raza, el bajo peso al nacer y la obesidad. Un diagnóstico acertado comienza con una historia clínica y una evaluación física completas, además de las pruebas diagnósticas que confirmen la sospecha. Las pruebas dinámicas en estos pacientes son de gran ayuda, pero es indispensable su correcta interpretación. De acuerdo con el consenso de expertos realizado en el año 2009, los niveles de esteroides gonadales pueden añadir información para el diag-

Tabla 6. Pruebas de laboratorio disponibles en nuestro medio para el estudio del paciente con pubertad precoz

Hormona luteinizante (LH)
Hormona folículo estimulante (FSH)
Estradiol
Testosterona
Prueba de estimulación con GnRH
Prueba alternativa con LHRH

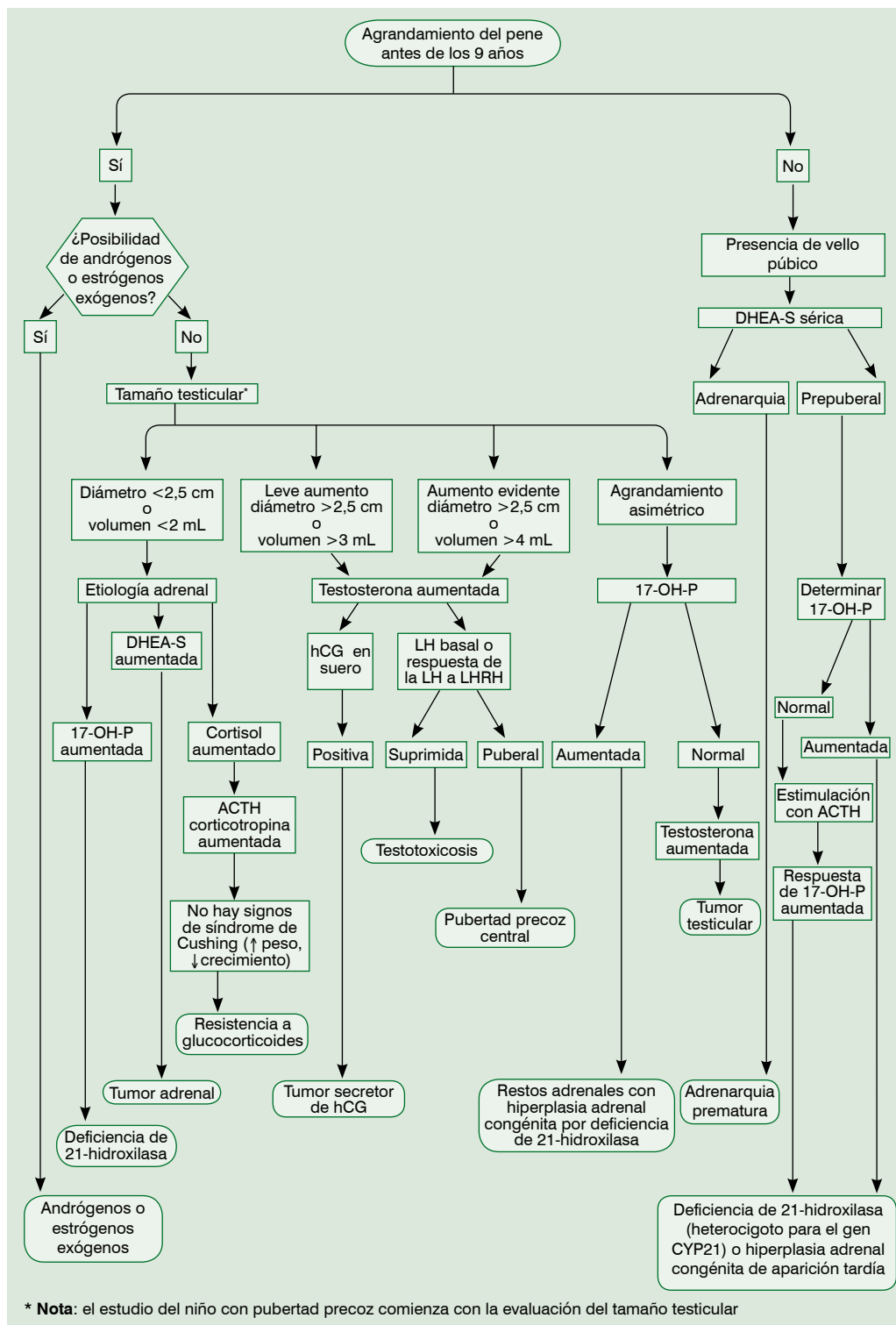


Figura 3. Algoritmo para el estudio del niño con sospecha de pubertad precoz. *Convenciones:* 17-OH-P: 17-hidroxiprogesterona; DHEA-S: sulfato de dehidroepiandrosterona; hCG: hormona gonadotrofina coriónica.

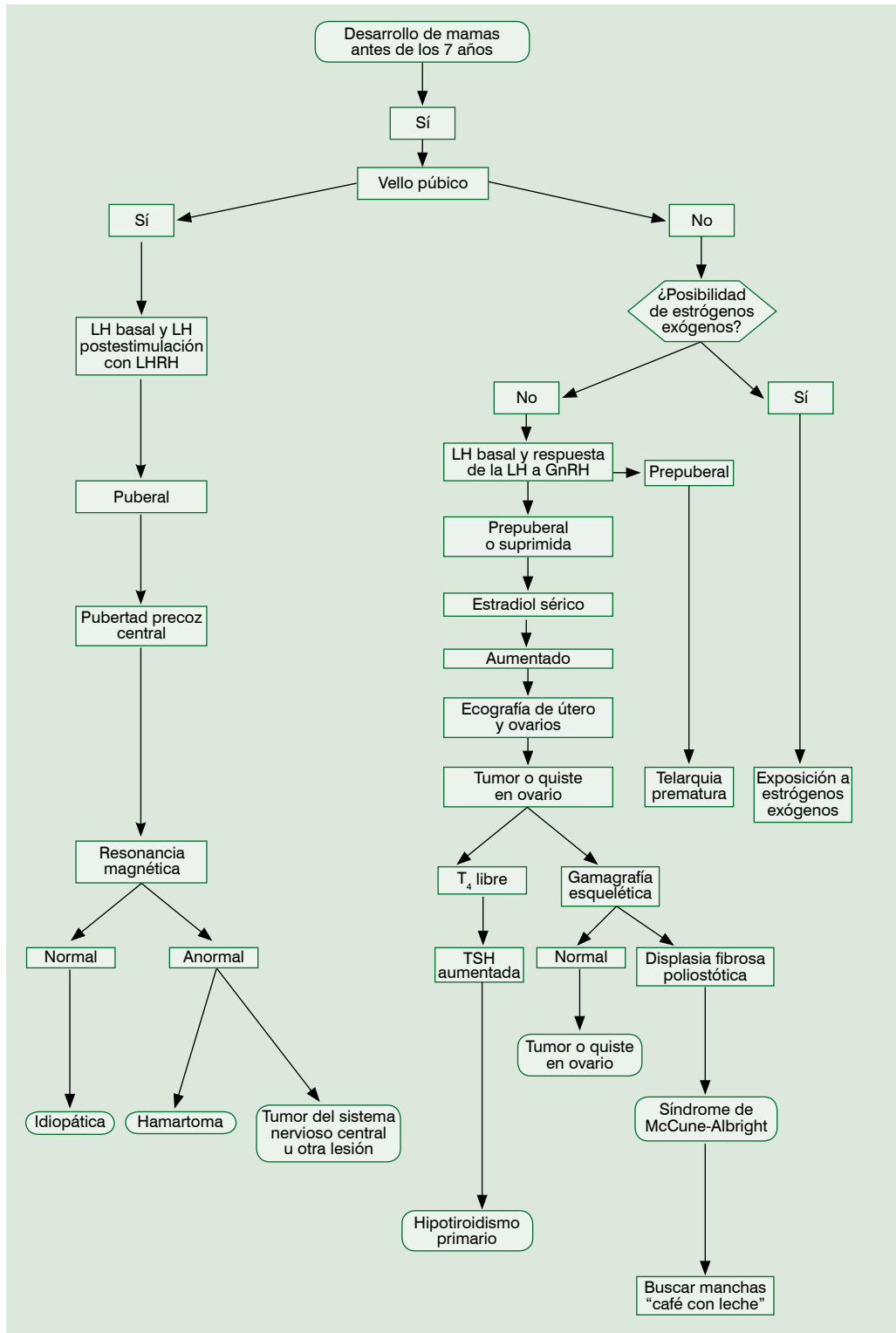


Figura 4. Algoritmo para el estudio de la niña con sospecha de pubertad precoz.

nóstico, pero no son suficientes por sí solos [14]. Los niveles basales de LH tienen utilidad como prueba de tamización y pueden ser diagnósticos, en tanto que los niveles de LH postestimulación muestran variabilidad dependiente de la técnica y de los valores de referencia. Finalmente, se debe tener presente que no todos los pacientes con una aparente pubertad precoz necesitan tratamiento [53].

Abstract: Precocious puberty is defined as the onset of puberty before the age of 8 years in girls and 9 years in boys; however, it may be affected by factors such as race, low birth weight and obesity. Early physical changes in puberty are the result of sexual hormones being produced by the activation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. The onset of puberty is marked by breast development in girls and testicular enlargement in boys. Precocious puberty is classified as central, also known as GnRH-dependent puberty, and the main objective of this review, or peripheral, also known as GnRH-independent puberty. The first step in evaluating a child with precocious puberty is to obtain a complete family and personal history, followed by a physical examination. Diagnosis of precocious puberty relies on imaging techniques and laboratory testing. The GnRH stimulation test is considered the gold standard to evaluate the activation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis; peak LH or FSH values and LH/FSH peak ratios can be used to assess the response to the stimulus.

Key words: Precocious puberty, etiology, classification, diagnosis, dynamic testing.

Jaramillo-Arango C, Campuzano-Maya G, Balthazar-González V, Alfaro-Velásquez JM. Dynamic testing in endocrinology: Precocious puberty. *Medicina & Laboratorio* 2009; 15: 311-327.

Module 1 (Clinic and laboratory), number 75. Editora Médica Colombiana S. A., 2009®.

Received on July 1, 2009; accepted on July 16, 2009.

Bibliografía

1. **Aziz DC.** Disorders of pubertal sexual development. In: Use and interpretation of tests in endocrinology. Specialty Laboratories. Santa Monica, California. 1997.
2. **Serdar EB, Adashi EY.** The physiology and pathology of the female reproductive axis. In: Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, eds. *Kronenberg: Williams Textbook of Endocrinology*, 11th ed. Philadelphia; WB Saunders. 2008.
3. **Nield LS, Cakan N, Kamat D.** A practical approach to precocious puberty. *Clin Pediatr (Phila)* 2007; 46: 299-306.
4. **Lee PA, Kerrigan JR.** Precocious puberty. In: Pescovitz OH. *Pediatric endocrinology: mechanisms, manifestations, and management*. Philadelphia; Lippincott Williams & Wilkins. 2004.
5. **Guyton A, Hall J.** Endocrinology and reproduction. In: *Textbook of medical physiology*. 11 ed. Philadelphia; WB Saunders. 2005.
6. **Lewis K, Lee PA.** Endocrinology of male puberty. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2009; 16: 5-9.
7. **DiVall SA, Radovick S.** Endocrinology of female puberty. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2009; 16: 1-4.
8. **Lee PA, Houk CP.** Puberty and its disorders. In: Lifshitz, F, ed. *Pediatric endocrinology*, 5th ed. New York; Informa Healthcare. 2007.
9. **Terasawa E, Fernandez DL.** Neurobiological mechanisms of the onset of puberty in primates. *Endocr Rev* 2001; 22: 111-151.
10. **Kaplowitz PB.** Link between body fat and the timing of puberty. *Pediatrics* 2008; 121 Suppl 3: S208-217.
11. **Lapatto R, Pallais JC, Zhang D, Chan YM, Mahan A, Cerrato F, et al.** Kiss1^{-/-} mice exhibit more variable hypogonadism than Gpr54^{-/-} mice. *Endocrinology* 2007; 148: 4927-4936.

12. **Dungan HM, Gottsch ML, Zeng H, Gragerov A, Bergmann JE, Vassilatis DK, et al.** The role of kisspeptin-GPR54 signaling in the tonic regulation and surge release of gonadotropin-releasing hormone/luteinizing hormone. *J Neurosci* 2007; 27: 12088-12095.
13. **Teles MG, Bianco SD, Brito VN, Trarbach EB, Kuohung W, Xu S, et al.** A GPR54-activating mutation in a patient with central precocious puberty. *N Engl J Med* 2008; 358: 709-715.
14. **Carel JC, Eugster EA, Rogol A, Ghizzoni L, Palmert MR, Antoniazzi F, et al.** Consensus statement on the use of gonadotropin-releasing hormone analogs in children. *Pediatrics* 2009; 123: e752-762.
15. **Herman-Giddens ME, Slora EJ, Wasserman RC, Bourdony CJ, Bhapkar MV, Koch GG, 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: 505-512.
16. **Papathanasiou A, Hadjiathanasiou C.** Precocious puberty. *Pediatr Endocrinol Rev* 2006; 3 Suppl 1: 182-187.
17. **Abisu-Andrade J, Blasco-González L, Garagorri-Otero J, Ramírez-Fernández J.** Pubertad precoz. In: *Guías Diagnóstico-terapéuticas en endocrinología pediátrica*. Sociedad Española de Endocrinología Pediátrica. 2004.
18. **Carel JC, Leger J.** Clinical practice. Precocious puberty. *N Engl J Med* 2008; 358: 2366-2377.
19. **Rosenfield RL, Cooke DW, Radovick S.** Puberty and its disorders in the female. In: *Sperling MA, ed. Pediatric endocrinology*, 3rd ed. Philadelphia; Saunders Elsevier. 2008.
20. **Brito VN, Latronico AC, Arnhold IJ, Mendonca BB.** Update on the etiology, diagnosis and therapeutic management of sexual precocity. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2008; 52: 18-31.
21. **Ilicki A, Prager Lewin R, Kauli R, Kaufman H, Schachter A, Laron Z.** Premature thelarche--natural history and sex hormone secretion in 68 girls. *Acta Paediatr Scand* 1984; 73: 756-762.
22. **Volta C, Bernasconi S, Cisternino M, Buzi F, Ferzetti A, Street ME, et al.** Isolated premature thelarche and thelarche variant: clinical and auxological follow-up of 119 girls. *J Endocrinol Invest* 1998; 21: 180-183.
23. **Neville KA, Walker JL.** Precocious pubarche is associated with SGA, prematurity, weight gain, and obesity. *Arch Dis Child* 2005; 90: 258-261.
24. **De Sanctis V, Corrias A, Rizzo V, Bertelloni S, Urso L, Galluzzi F, et al.** Etiology of central precocious puberty in males: the results of the Italian Study Group for Physiopathology of Puberty. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000; 13 Suppl 1: 687-693.
25. **Brauner R.** Central precocious puberty in girls: prediction of the aetiology. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2005; 18: 845-847.
26. **Rodríguez-Sánchez A, Rodríguez-Amao J.** Pubertad precoz. In: *Pombo M, ed. Tratado de endocrinología pediátrica*, 3ra ed. Madrid; McGraw-Hill Interamericana. 2002.
27. **Arango-Toro C, Campuzano-Maya G, Latorre-Sierra G.** Pruebas dinámicas en endocrinología: insuficiencia adrenal. *Medicina & Laboratorio* 2009; 15.
28. **Blondell RD, Foster MB, Dave KC.** Disorders of puberty. *Am Fam Physician* 1999; 60: 209-218, 223-204.
29. **Fahmy JL, Kaminsky CK, Kaufman F, Nelson MD, Jr., Parisi MT.** The radiological approach to precocious puberty. *Br J Radiol* 2000; 73: 560-567.
30. **Tanner JM.** Normal growth and techniques of growth assessment. *Clin Endocrinol Metab* 1986; 15: 411-451.
31. **Badouraki M, Christoforidis A, Economou I, Dimitriadis AS, Katzos G.** Evaluation of pelvic ultrasonography in the diagnosis and differentiation of various forms of sexual precocity in girls. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; 32: 819-827.
32. **de Vries L, Horev G, Schwartz M, Phillip M.** Ultrasonographic and clinical parameters for early differentiation between precocious puberty and premature thelarche. *Eur J Endocrinol* 2006; 154: 891-898.
33. **Zwiebel WJ, Murray KA.** Imaging assessment of pubertal disorders. *Semin Ultrasound CT MR* 1995; 16: 296-303.
34. **Ilondo MM, van den Mooter F, Marchal G, Vereecken R, Wynants P, Lauweryns JM, et al.** A boy with Leydig cell tumour and precocious puberty: ultrasonography as a diagnostic aid. *Eur J Pediatr* 1981; 137: 221-227.
35. **Teilmann G, Pedersen CB, Skakkebaek NE, Jensen TK.** Increased risk of precocious puberty in internationally adopted children in Denmark. *Pediatrics* 2006; 118: e391-399.
36. **Teilmann G, Boas M, Petersen JH, Main KM, Gormsen M, Damgaard K, et al.** Early pituitary-gonadal activation before clinical signs of puberty

- in 5- to 8-year-old adopted girls: a study of 99 foreign adopted girls and 93 controls. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 2538-2544.
37. **Resende EA, Lara BH, Reis JD, Ferreira BP, Pereira GA, Borges MF.** 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.
 38. **Houk CP, Kunselman AR, Lee PA.** Adequacy of a single unstimulated luteinizing hormone level to diagnose central precocious puberty in girls. *Pediatrics* 2009; 123: e1059-1063.
 39. **Brito VN, Batista MC, Borges MF, Latronico AC, Kohek MB, Thirone AC, et al.** Diagnostic value of fluorometric assays in the evaluation of precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3539-3544.
 40. **Neely EK, Wilson DM, Lee PA, Stene M, Hintz RL.** Spontaneous serum gonadotropin concentrations in the evaluation of precocious puberty. *J Pediatr* 1995; 127: 47-52.
 41. **Grumbach MM.** The neuroendocrinology of human puberty revisited. *Horm Res* 2002; 57 Suppl 2: 2-14.
 42. **Bay K, Andersson AM, Skakkebaek NE.** Estradiol levels in prepubertal boys and girls--analytical challenges. *Int J Androl* 2004; 27: 266-273.
 43. **Rosner W, Auchus RJ, Azziz R, Sluss PM, Raff H.** Position statement: Utility, limitations, and pitfalls in measuring testosterone: an Endocrine Society position statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 405-413.
 44. **Lee PA.** Laboratory monitoring of children with precocious puberty. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1994; 148: 369-376.
 45. **Lee PA.** Advances in the management of precocious puberty. *Clin Pediatr (Phila)* 1994; 33: 54-61.
 46. **Neely EK, Hintz RL, Wilson DM, Lee PA, Gautier T, Argente J, et al.** Normal ranges for immunochemiluminometric gonadotropin assays. *J Pediatr* 1995; 127: 40-46.
 47. **Carillo AA, Bao Y.** Hormonal dynamic tests and genetic tests used in pediatric endocrinology. In: Lifshitz, F, ed. *Pediatric endocrinology*, 5th ed. New York; Informa Healthcare. 2007
 48. **Fisher DA.** The quest diagnostics manual pediatric endocrinology tests and methods, specimen requirements, test selection and interpretation. Philadelphia; Saunders Elsevier. 2000.
 49. **Cavallo A, Richards GE, Busey S, Michaels SE.** A simplified gonadotrophin-releasing hormone test for precocious puberty. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1995; 42: 641-646.
 50. **Eckert KL, Wilson DM, Bachrach LK, Anhalt H, Habiby RL, Olney RC, et al.** A single-sample, subcutaneous gonadotropin-releasing hormone test for central precocious puberty. *Pediatrics* 1996; 97: 517-519.
 51. **García H, Youlton R, Burrows R, Catanni A.** [Consensus on the diagnosis and treatment of central early puberty]. *Rev Med Chil* 2003; 131: 95-110.
 52. **Ibanez L, Potau N, Zampolli M, Viridis R, Gussinye M, Carrascosa A, et al.** Use of leuprolide acetate response patterns in the early diagnosis of pubertal disorders: comparison with the gonadotropin-releasing hormone test. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 30-35.
 53. **Palmert MR, Malin HV, Boepple PA.** Unsustained or slowly progressive puberty in young girls: initial presentation and long-term follow-up of 20 untreated patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 415-423.