

Sumario

Noviembre 2017, VOLUMEN 8 (2)

1ª Jornada sobre
**AVANCES en
PUBERTAD**

17 Noviembre 2017 **MADRID**

CONFERENCIAS

Desarrollo y pubertad en el ser humano	4
Kisspeptins and Puberty	8
Early nutrition and puberty	15
Glia y pubertad	16
Molecular Advances in the Diagnosis of Central Precocious Puberty	17
Molecular advances in the diagnosis of delayed puberty	22
Determinaciones bioquímicas basales y tras estímulo de utilidad en el diagnóstico de patología puberal	35
Pruebas de imagen en el diagnóstico de la patología puberal	42
Indicaciones, eficacia y seguridad del tratamiento con análogos de GnRH	55

CASOS CLÍNICOS

Casos clínicos de pubertad	64
----------------------------------	----





JUNTA DIRECTIVA DE LA SEEP

Presidente

Dra. Beatriz García Cuartero

Secretaria general

Dra. María Victoria Borrás Pérez

Tesorera

Dra. M^a José Martínez-Aedo Ollero

Vocales

Dr. Fernando Aleixandre Blanquer

Dra. María Alija Merillas

Dra. Concepción Fernández Ramos

COMITÉ ORGANIZADOR

Prof. Jesús Argente Oliver (Coordinador)

Prof. Leandro Soriano Guillén (Coordinador)

Dr. Ramón Cañete

Dra. Lidia Castro

Dra. Raquel Corripio

Dr. Rafael Espino

Dra. Arancha Escribano

Dr. Francisco Javier Herrero

Dr. José Ignacio Labarta

Dra. Paula Sol Ventura

COMITÉ EDITORIAL

Directora

Laura Audí Parera

Directores asociados

Lidia Castro-Feijóo

Diego De Sotto Esteban

Concepción Fernández-Ramos

Alfonso Lechuga Sancho

Leandro Soriano Guillén

Revista Española
Endocrinología Pediátrica.

Texto íntegro de
acceso libre en:

www.seep.es/revista



Sociedad
Española de
Endocrinología
Pediátrica

PULSO
ediciones

Rambla del Cellar, 117-119
08172 Sant Cugat del Vallès · Barcelona
Telf.: +34 935 896 264
Fax: +34 935 895 077

Paseo Club Deportivo, 1,
Edificio 15-A, 1ª planta
28223 Pozuelo de Alarcón
Telf.: +34 913 205 827

Paseo de la Reforma 383
Int. 704 Col. Cuauhtémoc,
México D.F. 06500 (México)
Telf.: + -52 55 5980 9735

Calle 90 n° 16-18, 5ª planta.
Bogotá D.C. Colombia
Telf.: +571 7428800

- ISSN: 2013-7788
- Publicación autorizada como soporte válido: 0336E/8590/2010

Secretaría editorial
seep@seep.es

Normas de publicación:
www.seep.es

© SEEP

Reservados todos los derechos mundiales. El contenido de esta obra no puede reproducirse, almacenarse en un sistema de recuperación o transmitirse en forma alguna por medio de cualquier procedimiento, sea éste mecánico, electrónico, de fotocopia, grabación o cualquier otro, sin el previo permiso por escrito del editor.

sumario



Revista Española de
Endocrinología Pediátrica

Volumen 8
Edición 2

CONFERENCIAS

Desarrollo y pubertad en el ser humano.....	4
<i>Leandro Soriano Guillén, Jesús Argente</i>	
Kisspeptins and Puberty	8
<i>JM Castellano, M Tena-Sempere</i>	
Early nutrition and puberty	15
<i>Julie A. Chowen</i>	
Glia y pubertad	16
<i>LM García-Segura, JA Chowen</i>	
Molecular Advances in the Diagnosis of Central Precocious Puberty.....	17
<i>Ana C. Latronico</i>	
Molecular advances in the diagnosis of delayed puberty	22
<i>SR Howard, L Dunkel</i>	
Determinaciones bioquímicas basales y tras estímulo de utilidad en el diagnóstico de patología puberal	35
<i>José Ignacio Labarta Aizpún, Marta López Úbeda, Antonio de Arriba Muñoz, Marta Ferrer Lozano</i>	
Pruebas de imagen en el diagnóstico de la patología puberal	42
<i>Lidia Castro-Feijóo, Paloma Cabanas, Jesús Barreiro, Manuel Pombo</i>	
Indicaciones, eficacia y seguridad del tratamiento con análogos de GnRH	55
<i>Raquel Corripio Collado</i>	

CASOS CLÍNICOS

Casos clínicos de pubertad	64
<i>Paula Sol Ventura Wichner, Francisco J Herrero Espinet</i>	

Desarrollo y pubertad en el ser humano

Normal puberty and development in humans

Leandro Soriano Guillén¹, Jesús Argente²

¹Unidad de Endocrinología Infantil. Servicio de Pediatría. Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz. Universidad Autónoma de Madrid. Madrid

²Servicios de Pediatría y Endocrinología. Hosp. Infantil Universitario Niño Jesús. Inst. de Investigación Sanitaria La Princesa. Dep. de Pediatría. Univ. Autónoma de Madrid. CIBER de Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición, Inst. de Salud Carlos III. Inst. de Alimentación IMDEA, CEI UAM+CSIC. Madrid

Resumen

La pubertad es un fenómeno biológico muy complejo a través del cual se desarrollan los caracteres sexuales secundarios, se obtiene la maduración sexual completa y se alcanza la talla adulta. La regulación del inicio y mantenimiento de la pubertad depende de una compleja interrelación entre genes y otros factores reguladores tales como la nutrición, toxicidad ambiental, ciclos de luz/oscuridad y situación psicosocial. El fenómeno íntimo que favorece el inicio de la pubertad es el aumento en el número y en la amplitud de los picos de secreción de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) por parte de las neuronas hipotálamicas productoras de GnRH que a su vez se encuentra regulado por una compleja red de genes que codifican proteínas capaces de producir cambios transinápticos que pueden actuar favoreciendo (kisspeptina) o inhibiendo (MKRN3) la secreción de GnRH. A pesar de la tendencia secular de disminución de la edad de inicio de la pubertad objetivada entre el siglo XIX y mediados del siglo XX, parece que en las últimas 3 décadas se ha objetivado cierta estabilización de forma que se considera desarrollo puberal normal a aquel que acontece entre los 8 y 13 años en niñas y entre los 9 y 14 años en niños.

Palabras clave: *Tendencia secular, pubertad normal*

Correspondencia:

Jesús Argente, Servicios de Pediatría y Endocrinología Hosp. Infantil Universitario Niño Jesús. Inst. de Investigación Sanitaria La Princesa. Dep. de Pediatría, Univ. Autónoma de Madrid. CIBER de Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición, Inst. de Salud Carlos III. Inst. de Alimentación IMDEA, CEI UAM+CSIC, Madrid
E-mail: jesus.argente@uam.es

Abstract

Puberty is a very complex biological phenomenon through which the secondary sexual characteristics develop and complete sexual maturation and adult height are achieved. The regulation of onset and maintenance of puberty is regulated by a complex interrelationship between genes and regulatory factors such as nutrition, environmental toxicity, light / dark cycles and psychosocial status. The intimate phenomenon that favors the onset of puberty is the increase in the number and amplitude of gonadotropin-releasing hormone secretion peaks (GnRH) by hypothalamic GnRH-producing neurons which in turn is regulated by a complex network of genes that encodes proteins capable of producing synaptic changes that may act stimulating (kisspeptin) or inhibiting (MKRN3) GnRH synthesis. In spite of the secular trend of decreasing age of onset of puberty showed between the nineteenth century and the mid-twentieth century, it seems that in the last 3 decades it has been seen some stabilization in a way that is considered normal pubertal development that will take place between 8 and 13 years in girls and between 9 and 14 years in children.

Key Words: *Secular trend, normal puberty*

Control del desarrollo puberal en el ser humano

La pubertad es un fenómeno biológico complejo a través del cual se desarrollan los caracteres sexuales secundarios, se obtiene la maduración sexual completa y se alcanza la talla adulta. En los seres humanos, la pubertad se manifiesta no solamente en forma de cambios hormonales y físicos, sino también con cambios conductuales y psicológicos ⁽¹⁻⁴⁾.

El inicio y mantenimiento de la pubertad resulta de la interacción entre importantes determinantes genéticos y un gran número de factores reguladores tales como la nutrición, toxicidad ambiental, ciclos de luz/oscuridad y situación psicosocial. Estas interacciones se inician en etapas tempranas del desarrollo, por lo que la pubertad debe considerarse la parte final de un proceso madurativo complejo regulado por las interacciones de genes y ambiente. De esta forma, se estima que aproximadamente el 70-80% de la variabilidad en la edad de la menarquia, elemento clave del desarrollo puberal de las niñas, dependería de factores genéticos, frente a un 20-30% de factores ambientales ⁽³⁻⁴⁾.

Se ha propuesto que el fenómeno íntimo que favorece el inicio de la pubertad es el aumento en el número y en la amplitud de los picos de secreción de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) por parte de las neuronas hipotalámicas productoras de GnRH. Esta situación favorece el aumento en la secreción de gonadotropinas y, consecuentemente, de esteroides sexuales, que facilitarían el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios. Este fenómeno estaría regulado, a su vez, por una compleja red nodal de genes que codificarían proteínas cuyas acciones se solaparían e interaccionarían tanto de una forma jerárquica como independiente. Así pues, existiría una red nodal central que regularía la transcripción de genes subordinados localizados en la periferia. Lógicamente, la interrelación entre el eje central y la primera red de genes vecinos es superior al resto de redes. En definitiva, la pubertad no es un evento desencadenado por la acción de un único gen y se encuentra regulada por la red nodal de genes antes descrita, produciendo una serie de cambios hipotalámicos tales como ^(5,6):

- i. Cambios transinápticos: a) incremento de estímulos excitatorios de las neuronas secretoras de GnRH fundamentalmente vía kisspeptina; b) disminución de los estímulos inhibitorios como neuronas gabaérgicas y neuronas productoras de MKRN3 ("*makorin ring finger protein 3*").
- ii. Cambios en células gliales: las células gliales contribuyen a la activación de la secreción de GnRH merced a la liberación de sustancias locales y gracias a cambios en la adhesividad.

Por otra parte, en el conocimiento más profundo de la neuroregulación de la pubertad, resulta de interés el avance notable en la comprensión de la influencia de mecanismos epigenéticos: cambios en la expresión de distintos genes no debidos a cambios de la secuencia de nucleótidos de un gen. Los principales mecanismos epigenéticos conocidos que puedan afectar al normal desarrollo puberal son: a) modificaciones químicas del ADN vía metila-

ción e hidroximetilación; b) modificaciones post-transcripcionales de las cuatro histonas que conforman la parte proteica del nucleosoma, la unidad central de la cromatina; c) a través del ARN no codificante tanto como microRNAs como zonas intergénicas no codificantes más grandes (lincRNAs) ^(6,7).

Finalmente, desde hace tiempo se ha señalado una estrecha relación entre metabolismo e inicio y mantenimiento de la pubertad gracias al descubrimiento de diferentes moléculas que informan del estado nutricional, principalmente leptina y ghrelina ^(8,9). En la práctica clínica habitual se traduce en que la obesidad se ha relacionado con adelanto puberal y la desnutrición con retraso puberal.

Tendencia secular del desarrollo puberal

Se ha documentado una tendencia secular de disminución de la edad de inicio de la pubertad a través de la recogida de información sobre la edad de la menarquia en diferentes países a lo largo del siglo XIX y XX. Así pues, disponemos de datos que muestran que la edad de la menarquia a mediados del siglo XIX se situaba entre los 16 y 17,5 años, para un siglo después, colocarse entre los 12,5 y 13,5 años. Esta tendencia ha sido relacionada con la mejora en las condiciones de vida de niños y adolescentes, primordialmente en lo relativo a aspectos nutricionales. No obstante, este adelanto de la edad de aparición de la pubertad parece haberse atenuado en las dos últimas décadas del siglo XX ^(1,10).

Más recientemente, el estudio de una cohorte danesa ha puesto de manifiesto cierto adelanto en la aparición de telarquia que no se acompaña de incrementos de los niveles de estradiol ni de gonadotropinas ni de un anticipo en la edad de la menarquia, sugiriendo un mecanismo independiente de la secreción de gonadotropinas y probablemente relacionado con factores ambientales y nutricionales junto con mayor biodisponibilidad y/o sensibilidad de los estrógenos circulantes ⁽¹⁰⁾. De esta forma, parece que el intervalo entre telarquia y menarquia se prolonga, lo que deberá tenerse en cuenta a la hora de emitir predicciones sobre la evolución de la pubertad.

Desarrollo puberal normal

Gracias a los estudios históricos realizados por Marshall y Tanner a finales de los años 60 se sentaron las bases del conocimiento del desarrollo puberal normal ^(11,12). De esta forma, por un lado se estudió a una cohorte compuesta por 192 niñas en las que la telarquia se presentaba entre los 8,5 y los 13 años en un 95% de niñas estudiadas. Por otro, se analizó una cohorte conformada por 228 niños en

los que se objetivaba el inicio del desarrollo puberal entre los 9,5 y los 13,5 años en el 95% de los niños estudiados. Por tanto, la definición de pubertad normal obedece a criterios puramente estadísticos; es decir, si la aparición de los caracteres sexuales secundarios se encuentran dentro del intervalo de $\pm 2,5$ SDS (Z-score) para sexo y población de referencia. Así pues, a día de hoy se considera una pubertad normal la que acontece entre los 8 y 13 años en niñas y entre 9 y 14 años en niños.

Estos límites de edad para definir los criterios de pubertad normal fueron cuestionados en la última década del siglo XX tras la aparición de un estudio transversal americano que alarmó a la comunidad científica internacional⁽¹³⁾ ya que consideraba como límite inferior del comienzo de la pubertad los 7 años; sin embargo, es menester destacar que este estudio presentaba importantes errores metodológicos. El principal de ellos fue que la estimación del estadio puberal a través de la evaluación del grado de telarquia se realizó por inspección y no por palpación. En definitiva, los límites anteriormente citados para la definición de pubertad normal siguen vigentes en la actualidad^(14, 15).

El inicio de pubertad en las niñas lo marca la aparición de telarquia progresiva (aproximadamente entre los 10,5 y 11 años de media) frente al incremento del tamaño testicular (≥ 4 ml) observado en los niños (sobre los 11,5-12 años de media). Seguidamente, de forma progresiva, se desarrollan el resto de caracteres sexuales secundarios. Así, el tiempo transcurrido entre el inicio del estadio puberal Tanner II hasta alcanzar el estadio puberal Tanner V oscila en la mayoría de ocasiones entre tres y cuatro años. Generalmente, este intervalo es menor en niñas. La primera menstruación suele presentarse unos dos años después de la aparición de telarquia coincidiendo con el estadio puberal Tanner IV. Por otro lado, el cambio de voz en el niño aparece en el estadio puberal Tanner IV. Asimismo, durante el periodo puberal se objetiva un incremento de velocidad de crecimiento. En suma, desde comienzo del estadio puberal Tanner II hasta Tanner V las niñas crecen entre 20 y 25 cm de media frente a los 25-30 cm que suelen crecer los niños^(3, 4).

En el diagnóstico diferencial de la patología puberal deberemos tener en cuenta unas entidades que se consideran unas variantes del desarrollo puberal normal⁽¹⁶⁾:

- **Adrenarquia prematura idiopática:** aparición de vello púbico y/o axilar y/o aumento del olor corporal de origen apocrino antes de los 8 años en niñas y de los 9 años en niños, una vez excluidas patologías causantes de hiperandrogenismo como hiperplasia suprarrenal congénita y tumores virilizantes.

- **Telarquia prematura aislada:** desarrollo mamario uni o bilateral antes de los 8 años sin evidencia de otros signos de pubertad precoz como aceleración del crecimiento, edad ósea incrementada y aparición de vello púbico y/o axilar.
- **Pubertad adelantada:** desarrollo puberal se inicia entre los ocho y los nueve años en las niñas y entre los nueve y diez años en los niños.
- **Retraso constitucional del crecimiento y pubertad:** variante de la normalidad que se manifiesta en las niñas por ausencia de telarquia a partir de los 13 años y, en los niños, por no objetivarse incremento del tamaño testicular (≥ 4 ml) a partir de los 14 años, toda vez que se han excluido diferentes patologías relacionadas con el retraso puberal.

Patología puberal

Teniendo en cuenta que la definición de pubertad normal sigue unos criterios estadísticos, todo aquello que se encuentre en los extremos de la normalidad se considerará patológico⁽¹⁴⁻¹⁸⁾:

- **Pubertad precoz (PP):** aparición de caracteres sexuales secundarios antes de los 8 años en las niñas y de los 9 años en los niños.
 - **PP central (PPC):** dependiente de gonadotropinas. En las niñas se evidencia mayor prevalencia de casos idiopáticos, sobre 90%. Por el contrario, en los niños existe mayor frecuencia de patología endocrinal, en algunas series alcanza el 50%.
 - **PP periférica:** independiente de gonadotropinas. Mucho más infrecuente que la PPC.
- **Pubertad retrasada:** ausencia de caracteres sexuales secundarios a los 13 años en las niñas y a los 14 años en los niños.
 - **Hipogonadismo hipogonadotrofo funcional o reversible:** aproximadamente afecta a un 80% de los casos de retraso puberal en los niños y un 55% de las niñas. No obstante, en este grupo se incluye una variante de la normalidad: retraso constitucional del crecimiento y pubertad (RCCP). Así, el 60-65% de los casos de retraso puberal en niños corresponden a RCCP frente al 35% observado en niñas.
 - **Hipogonadismo hipogonadotrofo permanente:** 10% de casos de retraso puberal en niños y 20% de retraso puberal en niñas.

- Hipogonadismo hipergonadotropo: 5-10% de los retrasos puberales en niños y 25% en niñas.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no presentan ningún conflicto de intereses en relación con esta presentación.

Referencias Bibliográficas

1. Parent AS, Teilmann G, Juul A, Skakkebaek NE, Toppari J, Bourguignon JP. The timing of normal puberty and the age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends, and changes after migration. *Endocr Rev* 2003; 668-693.
2. Ojeda SR. Desarrollo sexual y Pubertad. En: Tratado de Endocrinología Pediátrica. Editor: Pombo M. Editorial Mc Graw Hill, 4ª edición, Madrid 2009; p. 473-80.
3. Argente J. Pubertad normal y sus variantes En: Pediatría Extrahospitalaria-Fundamentos clínicos para atención primaria. Editorial Ergon, 4ª edición, Madrid 2008; p.579-84.
4. Soriano-Guillén L. Pubertad normal y variantes de la normalidad. *Pediatría Integral* 2015; XIX (6): 380-8.
5. Ojeda SR, Dubay C, Lomniczi A, Kaidar G, Matagne V, Sandau US, et al. Gene networks and the neuroendocrine regulation of puberty. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 324: 3-11.
6. Lomniczi A, Wright H, Ojeda SR. Epigenetic regulation of female puberty. *Front Neuroendocrinol* 2015; 36C:90-107.
7. Lomniczi A, Ojeda SR. The emerging role of epigenetics in the regulation of female puberty. *Endocr Dev* 2016; 29: 1-16.
8. Kaplowitz PB. Link between body fat and the timing of puberty. *Pediatrics* 2008; 121 S208-17.
9. Martos-Moreno GA, Chowen JA, Argente J. Metabolic signals in human puberty: effects of over and undernutrition. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 324(1-2):70-81.
10. Sørensen K, Mouritsen A, Aksglaede L, Hagen CP, Mogensen SS, Juul A. Recent secular trends in pubertal timing: implications for evaluation and diagnosis of precocious puberty. *Horm Res Paediatr* 2012; 77(3):137-45.
11. Marshall WA, Tanner JM. Variations in the pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child* 1969; 44: 291-303.
12. Marshall WA, Tanner JM. Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child* 1970; 45: 13-24.
13. 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: 505-12.
14. Carel JC, Léger J. Precocious puberty. *N Engl J Med* 2008; 358: 2366-77.
15. Latronico AC, Brito VN, Carel JC. Causes, diagnosis, and treatment of central precocious puberty. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2016; 4(3):265-74.
16. Argente J, Soriano Guillén L. Manual de Endocrinología Pediátrica. Editorial Ergon, 2ª edición, Madrid 2014.
17. Palmert MR, Dunkel L. Clinical practice. Delayed puberty. *N Engl J Med* 2012; 366: 443-53.
18. Soriano-Guillén L, Sarafoglou K, Argente J. Precocious puberty. In: Textbook of Pediatric Endocrinology and Inborn Errors of Metabolism. Editors: Sarafoglou K, Hoffmann G, Roth R. Editorial Mc Graw Hill, 2nd Edition, 2017; p.643-61.

Kisspeptins and Puberty

JM Castellano, M Tena-Sempere

Inst. Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC); Dep. of Cell Biology, Physiology and Immunology. Univ. of Córdoba; Hosp. Universitario Reina Sofía; CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición, Inst. de Salud Carlos III. Córdoba

Abstract

Puberty is a complex developmental phenomenon, driven by brain pathways under the modulation of external and internal cues, which culminates with the acquisition of reproductive competence and sexual maturity. From a neurobiological perspective, this process is incumbent to the timed activation of the population of hypothalamic neurons producing gonadotropin-releasing hormone (GnRH); the enhancement of GnRH neurosecretory activity being ultimately responsible for the triggering of puberty. In the last decade, kisspeptins have emerged as pivotal upstream regulators of GnRH neurons, with prominent roles in their activation during the pubertal transition and its (direct or indirect) modulation by different regulatory signals, including metabolic cues. We will briefly review herein the major features of kisspeptins and their producing neurons, the so-called *Kiss1* neurons, as major gatekeepers and fine regulators of reproductive maturation and puberty onset in mammals.

Introduction

Puberty is major developmental event in the lifespan of any individual, which culminates with the attainment of sexual (somatic, psychological) maturity and reproductive capacity⁽¹⁾. This intricate maturational phenomenon is grounded on early differentiation events (starting in utero), and involves a complex series of morphological, functional,

endocrine, behavioral and psychological changes, which ultimately lead to the acquisition of a complete adult phenotype⁽¹⁾. Accordingly, puberty is regarded not only as a specific, relatively narrow stage of development, but rather considered as the final output of a maturational continuum that leads to reproductive competence.

The tempo of puberty is dictated by the dynamic interplay between genetic and environmental factors⁽¹⁾, so that perturbation of such dialogue often results in the inappropriate development of the reproductive axis that commonly leads to alterations of the timing of puberty (precocious, delayed or absent). In this sense, beyond its paramount biological relevance, puberty may be considered as putative sentinel for perturbations of the gene-environment interactions along early stages of development, whose alterations may lead to deregulation of key homeostatic systems. In fact, changes in the timing of puberty, especially earlier puberty, might impact important development events, including somatic and psychological maturation, and appear to be linked to numerous adverse health outcomes⁽²⁾, as well as reduced life expectancy⁽³⁾. This is specially worrying given the reported trends for changes in the age of puberty (mostly earlier), which seem to be more frequent in girls but appear to occur also in boys⁽⁴⁻⁶⁾. These observations urge for a better understanding of the physiological control of puberty, and of the pathophysiological basis of its alterations.

Neuroendocrinology of puberty: the GnRH Secretory drive

The neuroendocrine system responsible for puberty onset is the so-called hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis, whose full activation permits the acquisition of reproductive competence at puberty^(7, 8). This neurohormonal system primarily in-

Correspondencia:

M Tena-Sempere, Inst. Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC); Dep. of Cell Biology, Physiology and Immunology, Univ. of Córdoba; Hosp. Universitario Reina Sofía; CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición, Inst. de Salud Carlos III, Córdoba
E-mail: fi1tesem@uco.es

tegrates three major groups of factors, which are: (a) the decapeptide, GnRH, which is released in a pulsatile manner to the portal circuit connecting the medial-basal hypothalamus and the pituitary; (b) the gonadotropins, luteinizing hormone (LH) and follicle-stimulating hormone (FSH), produced by gonadotropic cells of the anterior pituitary; and (c) the gonadal hormones, mainly sex steroids and several peptides, which operate via feedback loops at upper levels of the HPG axis to conduct its homeostatic regulation. In addition, the HPG axis is also modulated by other endogenous factors, e.g., metabolic hormones, and exogenous signals, e.g., nutrition and light conditions⁽⁸⁾, which contribute also to the dynamic control of puberty.

From its reproductive perspective, the initiation of puberty is founded on the heightening of the pulsatile release of hypothalamic GnRH⁽⁹⁾. Yet, the intimate mechanisms whereby this increase occurs remain ill defined. The current view, articulated in the so-called “central drive” hypothesis, concurs that the increase in the pulsatile GnRH secretion leading to the onset of puberty is the result of changes in the activity of the central pathways controlling GnRH neurons, with a switch in the balance between excitatory inputs (which increase) and inhibitory signals (which decrease at the time of puberty), thus causing the *drive* for the pubertal activation of the HPG axis⁽⁹⁾. Notably, the activator afferents of GnRH neurons include not only transynaptic inputs but also glial-born factors⁽¹⁰⁾.

Kisspeptins and the central control of puberty

While the control of GnRH neurons is multifactorial, and numerous neuropeptides and transmitters have been shown in the last decades to regulate GnRH secretion, kisspeptins have emerged in recent years as fundamental regulatory signals, with an essential role in the control of puberty⁽¹¹⁾. Kisspeptins are a family of structurally related peptides, encoded by the *Kiss1* gene, which act via the G protein-coupled receptor, Gpr54, also termed Kiss1R or kisspeptin receptor^(11,12). The reproductive facet of kisspeptins, and their role in the precise control of puberty, was surfaced by seminal observations, back in 2003, that inactivating mutations of GPR54 were linked to absence of puberty and hypogonadism of central origin (aka, hypogonadotropic hypogonadism) in humans^(13, 14). Such reproductive role was further demonstrated by the observation of similar phenotypes in patients with inactivating mutations of *KISS1* and in null mice for Gpr54 or *Kiss1*⁽¹¹⁾.

These findings boosted enormous interest and prompted the analysis of the physiological roles of *Kiss1* neurons in the regulation of GnRH neurose-

cretion and puberty onset. While detailed recapitulation of the results of these studies clearly exceeds the scope of this review, it is important to stress that such analyses have unambiguously documented a sophisticated developmental program of *Kiss1* neurons, responsible for their activation during the pubertal maturation^(11,15). This complex and multifaceted phenomenon includes, at least, the following major components: (a) an increase in the hypothalamic *Kiss1* mRNA/kisspeptin content during the juvenile-pubertal transition that drives the full activation of the GnRH/gonadotropin system⁽¹⁶⁻¹⁹⁾; (b) a rise in the sensitivity to the excitatory actions of kisspeptins on GnRH secretion^(20,21); (c) an enhancement of Gpr54 signaling efficiency in GnRH neurons; (d) a state of partial resistance to desensitization to kisspeptin stimulation^(21, 22); and (e) a rise of kisspeptin-positive neurons and their projections to GnRH neurons^(23,24). In good agreement, pharmacological blockade of kisspeptin signaling has been reported to delay the onset of puberty in female rats⁽²⁵⁾, whereas ablation of *Kiss1* neurons in the juvenile period prevented pubertal maturation in female mice⁽²⁶⁾.

Despite the solid clinical and experimental evidence suggesting a role of kisspeptins in the timing of puberty, one study using functional genomics to congenitally ablate *Kiss1* neurons suggested that kisspeptin signaling seems to be dispensable for the attainment of female fertility⁽²⁶⁾. In the same vein, another study in a mouse model causing a congenital 95% reduction in hypothalamic *Kiss1* expression was compatible with roughly preserved reproductive function in male mice⁽²⁷⁾; yet, a similar reduction in hypothalamic *Kiss1* levels severely altered fertility in female mice. A tenable explanation is that these phenotypes might be due to incomplete neuronal/*Kiss1* expression elimination, coupled to potential developmental compensation⁽²⁶⁾, which can be activated by such congenital manipulations. Thus, these findings would not refute the essential role of hypothalamic kisspeptins in the physiological timing of puberty, but rather suggest that redundancy in *Kiss1* signaling may help to safeguard reproduction in relatively adverse conditions, at least in rodents.

Putative regulators of kisspeptins: neurokinin B and leptin

Two major populations of *Kiss1* neurons have been identified in the hypothalamus, as characterized in detail in rodents⁽²⁸⁾. One is located in the rostral hypothalamus, mainly at the antero-ventral periventricular nucleus (AVPV), while the other is placed in the arcuate nucleus (ARC) or its equivalent infundibular region in humans^(28,29). The latter, which is primarily involved in the tonic control of pulsatile

gonadotropin secretion, have been shown to co-express the neuropeptides, neurokinin-B (NKB) and dynorphin (Dyn), which seemingly operate as co-regulators of kisspeptin neurons and eventual modulators of puberty onset^(30,31). Therefore, this neuronal population has been named KNDy neurons, as they express *Kiss1*, *NKB* and *Dyn*. Admittedly, the level of co-expression of these neuropeptides varies depending on the species, the sex and the state of the HPG axis^(32,33). In any event, compelling evidence suggest that NKB may operate as a major stimulatory signal for the auto-regulation of kisspeptin release by KNDy neurons, and hence an important component of the machinery responsible for pulsatile GnRH secretion. In turn, Dyn would conduct an opposite role, by inhibiting kisspeptin output from KNDy neurons, and thereby suppressing GnRH neurosecretion.

Suggestive, as yet incomplete evidence suggests a role of NKB in the control of puberty onset. Thus, it has been shown that central injection of the NKB agonist, senktide, in prepubertal female rats stimulates LH secretion⁽³⁴⁾, while the hypothalamic expression of NKB gene increases before the rise of *Kiss1* mRNA levels in female rodents⁽³⁵⁾. In the same line, central blockade of NKB signaling caused a moderate delay of puberty onset in female rats⁽³⁴⁾. Recent evidence has shown that the stimulation of NKB signaling or the inhibition of Dyn induces early puberty onset in female rats⁽³⁶⁾. These findings are compatible with the view that the inhibitory effect of Dyn on kisspeptin neurosecretion decreases at the time of puberty, while the stimulatory effect of NKB gradually augments during this period. As a result of these sequential events, the pulsatile kisspeptin/GnRH/LH release would increase, thus leading to puberty onset⁽³⁷⁾.

Another group of putative modulators of kisspeptin signaling are the metabolic factors, which are known to be potent modifiers of puberty onset. Among them, a major player is the adipose hormone, leptin⁽³⁸⁾. The unequivocal essential role of leptin in the control of puberty is attested by the alterations in pubertal timing observed in conditions of leptin deficiency or (morbid) leptin excess, which are often associated with delayed or advanced puberty, respectively^(39,40). In this context, experimental evidence has suggested that leptin is a positive modulator of *Kiss1* neurons; a phenomenon that can contribute to transmitting the metabolic modulation puberty onset. Thus, conditions of leptin deficiency are known to suppress hypothalamic *Kiss1* expression in rodents and sheep^(39,40), while leptin administration activates kisspeptin neurons and/or increase *Kiss1* expression in different species⁽⁴¹⁻⁴⁴⁾, and cell lines^(45,46). In addition, expression of the gene encoding the leptin receptor has been documented in a fraction of ARC kisspeptin

neurons in mice and ewes^(42,47). Nonetheless, whether leptin modulated *Kiss1* neurons directly or indirectly has been the subject of intense debate, and studies involving selective elimination of leptin receptors from *Kiss1* neurons congenitally, using the Cre-loxP technology, suggest that leptin signaling in this neuronal population is dispensable for attainment of reproductive competence⁽⁴⁸⁾, while other studies have failed to detect a significant amount of functional leptin receptors in *Kiss1* neurons before puberty^(49,50). These findings, together with the observations that leptin does influence *Kiss1* neurons, would suggest a predominantly indirect mode of action, in which intermediary pathways and signals would play a relevant role. Among these, neuronal pathways originating from the ventral pre-mammillary nucleus (PMV)⁽⁵¹⁾, and others using nitric oxide as major transmitter⁽⁵²⁾.

Conclusions And Future Directions

Puberty, as fascinating developmental phenomenon, has drawn considerable attention, and numerous clinical and experimental studies, conducted in different mammalian species during the last decades, have contributed to substantially expand our understanding of the physiology of puberty and the basis of some of its major alterations. In this context, the discovery of kisspeptins, as essential regulatory elements for the central control of puberty in mammals, including humans, has revolutionized our knowledge about the intimate mechanisms of puberty, allowing to surface novel regulatory pathways whereby different factors, from environmental cues to endogenous hormones, contribute to the precise timing of puberty. While the progress has been astonishing, important aspects of kisspeptin and pubertal physiology remain ill defined and will likely focus considerable attention in the coming years. Among these facets, we foresee that elucidation of the molecular mechanisms for the precise control of *Kiss1*/kisspeptin expression and the relative role of the different *Kiss1* neurons populations will be of special interest, as epitomized by recent exciting findings on the putative roles of epigenetic regulatory mechanisms and microRNAs in the central control of puberty⁽⁵³⁻⁵⁵⁾.

Disclosure

No potential conflict of interest in relation to this presentation.

References

1. Parent, A.S., Teilmann, G., Juul, A., Skakkebaek, N.E., Toppari, J. & Bourguignon, J.P.

- (2003) The timing of normal puberty and the age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends, and changes after migration. *Endocr Rev* 24, 668-693.
2. Day, F.R., Elks, C.E., Murray, A., Ong, K.K. & Perry, J.R. (2015) Puberty timing associated with diabetes, cardiovascular disease and also diverse health outcomes in men and women: the UK Biobank study. *Sci Rep* 5, 11208.
 3. Lakshman, R., Forouhi, N.G., Sharp, S.J., Luben, R., Bingham, S.A., Khaw, K.T., Wareham, N.J. & Ong, K.K. (2009) Early age at menarche associated with cardiovascular disease and mortality. *J Clin Endocrinol Metab* 94, 4953-4960.
 4. De Leonibus, C., Marcovecchio, M.L., Chiavaroli, V., de Giorgis, T., Chiarelli, F. & Mohn, A. (2013) Timing of puberty and physical growth in obese children: a longitudinal study in boys and girls. *Pediatr Obes* doi: <https://dx.doi.org/10.1111/j.2047-6310.2013.00176.x>.
 5. Herman-Giddens, M.E., Steffes, J., Harris, D., Slora, E., Hussey, M., Dowshen, S.A., Wasserman, R., Serwint, J.R., Smitherman, L. & Reiter, E.O. (2012) Secondary sexual characteristics in boys: data from the Pediatric Research in Office Settings Network. *Pediatrics* 130, e1058-1068.
 6. Aksglaede, L., Juul, A., Olsen, L.W. & Sorensen, T.I. (2009) Age at puberty and the emerging obesity epidemic. *PLoS One* 4, e8450.
 7. Tena-Sempere, M. (2012) Deciphering puberty: novel partners, novel mechanisms. *Eur J Endocrinol* 167, 733-747.
 8. Tena-Sempere, M., Huhtaniemi, I. (2003) Gonadotropins and gonadotropin receptors. In: Fauser, B.C.J.M. (Ed.), *Reproductive Medicine – Molecular, Cellular and Genetic Fundamentals*. Parthenon Publishing, New York., 225-244.
 9. Ojeda, S.R., Skinner, M.K. (2006) Puberty in the rat. In: Neill, J.D. (Ed.), *The Physiology of Reproduction*. Academic Press/Elsevier, San Diego, pp. 2061–2126.
 10. Ojeda, S.R., Roth, C., Mungenast, A., Heger, S., Mastronardi, C., Parent, A.S., Lomniczi, A. & Jung, H. (2006) Neuroendocrine mechanisms controlling female puberty: new approaches, new concepts. *Int J Androl* 29, 256-263; discussion 286-290.
 11. Pinilla, L., Aguilar, E., Dieguez, C., Millar, R.P. & Tena-Sempere, M. (2012) Kisspeptins and reproduction: physiological roles and regulatory mechanisms. *Physiol Rev* 92, 1235-1316.
 12. Oakley, A.E., Clifton, D.K. & Steiner, R.A. (2009) Kisspeptin signaling in the brain. *Endocr Rev* 30, 713-743.
 13. Seminara, S.B., Messenger, S., Chatzidaki, E.E., Thresher, R.R., Acierno, J.S., Jr., Shagoury, J.K., Bo-Abbas, Y., Kuohung, W., Schwino, K.M., Hendrick, A.G., Zahn, D., Dixon, J., Kaiser, U.B., Slaugenhaupt, S.A., Gusella, J.F., O'Rahilly, S., Carlton, M.B., Crowley, W.F., Jr., Aparicio, S.A. & Colledge, W.H. (2003) The GPR54 gene as a regulator of puberty. *N Engl J Med* 349, 1614-1627.
 14. de Roux, N., Genin, E., Carel, J.C., Matsuda, F., Chaussain, J.L. & Milgrom, E. (2003) Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 10972-10976.
 15. Tena-Sempere, M. (2013) Keeping puberty on time: novel signals and mechanisms involved. *Curr Top Dev Biol* 105, 299-329.
 16. Navarro, V.M., Castellano, J.M., Fernandez-Fernandez, R., Barreiro, M.L., Roa, J., Sanchez-Criado, J.E., Aguilar, E., Dieguez, C., Pinilla, L. & Tena-Sempere, M. (2004) Developmental and hormonally regulated messenger ribonucleic acid expression of KiSS-1 and its putative receptor, GPR54, in rat hypothalamus and potent luteinizing hormone-releasing activity of KiSS-1 peptide. *Endocrinology* 145, 4565-4574.
 17. Navarro, V.M., Fernandez-Fernandez, R., Castellano, J.M., Roa, J., Mayen, A., Barreiro, M.L., Gaytan, F., Aguilar, E., Pinilla, L., Dieguez, C. & Tena-Sempere, M. (2004) Advanced vaginal opening and precocious activation of the reproductive axis by KiSS-1 peptide, the endogenous ligand of GPR54. *J Physiol* 561, 379-386.
 18. Plant, T.M., Ramaswamy, S. & Dipietro, M.J. (2006) Repetitive activation of hypothalamic G protein-coupled receptor 54 with intravenous pulses of kisspeptin in the juvenile monkey (*Macaca mulatta*) elicits a sustained train of gonadotropin-releasing hormone discharges. *Endocrinology* 147, 1007-1013.
 19. Shahab, M., Mastronardi, C., Seminara, S.B., Crowley, W.F., Ojeda, S.R. & Plant, T.M. (2005) Increased hypothalamic GPR54 signaling: a potential mechanism for initiation of puberty in primates. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 2129-2134.

20. Castellano, J.M., Navarro, V.M., Fernandez-Fernandez, R., Castano, J.P., Malagon, M.M., Aguilar, E., Dieguez, C., Magni, P., Pinilla, L. & Tena-Sempere, M. (2006) Ontogeny and mechanisms of action for the stimulatory effect of kisspeptin on gonadotropin-releasing hormone system of the rat. *Mol Cell Endocrinol* 257-258, 75-83.
21. Han, S.K., Gottsch, M.L., Lee, K.J., Popa, S.M., Smith, J.T., Jakawich, S.K., Clifton, D.K., Steiner, R.A. & Herbison, A.E. (2005) Activation of gonadotropin-releasing hormone neurons by kisspeptin as a neuroendocrine switch for the onset of puberty. *J Neurosci* 25, 11349-11356.
22. Roa, J., Vigo, E., Garcia-Galiano, D., Castellano, J.M., Navarro, V.M., Pineda, R., Dieguez, C., Aguilar, E., Pinilla, L. & Tena-Sempere, M. (2008) Desensitization of gonadotropin responses to kisspeptin in the female rat: analyses of LH and FSH secretion at different developmental and metabolic states. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 294, E1088-1096.
23. Bentsen, A.H., Ansel, L., Simonneaux, V., Tena-Sempere, M., Juul, A. & Mikkelsen, J.D. (2010) Maturation of kisspeptinergic neurons coincides with puberty onset in male rats. *Peptides* 31, 275-283.
24. Clarkson, J. & Herbison, A.E. (2006) Postnatal development of kisspeptin neurons in mouse hypothalamus; sexual dimorphism and projections to gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology* 147, 5817-5825.
25. Pineda, R., Garcia-Galiano, D., Roseweir, A., Romero, M., Sanchez-Garrido, M.A., Ruiz-Pino, F., Morgan, K., Pinilla, L., Millar, R.P. & Tena-Sempere, M. (2010) Critical roles of kisspeptins in female puberty and preovulatory gonadotropin surges as revealed by a novel antagonist. *Endocrinology* 151, 722-730.
26. Mayer, C. & Boehm, U. (2011) Female reproductive maturation in the absence of kisspeptin/GPR54 signaling. *Nat Neurosci* 14, 704-710.
27. Popa, S.M., Moriyama, R.M., Caligioni, C.S., Yang, J.J., Cho, C.M., Concepcion, T.L., Oakley, A.E., Lee, I.H., Sanz, E., Amieux, P.S., Caraty, A., Palmiter, R.D., Navarro, V.M., Chan, Y.M., Seminara, S.B., Clifton, D.K. & Steiner, R.A. (2013) Redundancy in Kiss1 expression safeguards reproduction in the mouse. *Endocrinology* 154, 2784-2794.
28. Garcia-Galiano, D., Pinilla, L. & Tena-Sempere, M. (2012) Sex steroids and the control of the Kiss1 system: developmental roles and major regulatory actions. *J Neuroendocrinol* 24, 22-33.
29. Smith, J.T., Cunningham, M.J., Rissman, E.F., Clifton, D.K. & Steiner, R.A. (2005) Regulation of Kiss1 gene expression in the brain of the female mouse. *Endocrinology* 146, 3686-3692.
30. Lehman, M.N., Coolen, L.M. & Goodman, R.L. (2010) Minireview: kisspeptin/neurokinin B/dynorphin (KNDy) cells of the arcuate nucleus: a central node in the control of gonadotropin-releasing hormone secretion. *Endocrinology* 151, 3479-3489.
31. Navarro, V.M., Gottsch, M.L., Chavkin, C., Okamura, H., Clifton, D.K. & Steiner, R.A. (2009) Regulation of gonadotropin-releasing hormone secretion by kisspeptin/dynorphin/neurokinin B neurons in the arcuate nucleus of the mouse. *J Neurosci* 29, 11859-11866.
32. Hrabovszky, E., Sipos, M.T., Molnar, C.S., Ciofi, P., Borsay, B.A., Gergely, P., Herczeg, L., Bloom, S.R., Ghatei, M.A., Dhillon, W.S. & Liposits, Z. (2012) Low degree of overlap between kisspeptin, neurokinin B, and dynorphin immunoreactivities in the infundibular nucleus of young male human subjects challenges the KNDy neuron concept. *Endocrinology* 153, 4978-4989.
33. Overgaard, A., Ruiz-Pino, F., Castellano, J.M., Tena-Sempere, M. & Mikkelsen, J.D. (2014) Disparate changes in kisspeptin and neurokinin B expression in the arcuate nucleus after sex steroid manipulation reveal differential regulation of the two KNDy peptides in rats. *Endocrinology* 155, 3945-3955.
34. Navarro, V.M., Ruiz-Pino, F., Sanchez-Garrido, M.A., Garcia-Galiano, D., Hobbs, S.J., Manfredi-Lozano, M., Leon, S., Sangiao-Alvarellos, S., Castellano, J.M., Clifton, D.K., Pinilla, L., Steiner, R.A. & Tena-Sempere, M. (2012) Role of neurokinin B in the control of female puberty and its modulation by metabolic status. *J Neurosci* 32, 2388-2397.
35. Gill, J.C., Navarro, V.M., Kwong, C., Noel, S.D., Martin, C., Xu, S., Clifton, D.K., Carroll, R.S., Steiner, R.A. & Kaiser, U.B. (2012) Increased neurokinin B (Tac2) expression in the mouse arcuate nucleus is an early marker of pubertal onset with differential sensitivity to sex steroid-negative feedback than Kiss1. *Endocrinology* 153, 4883-4893.
36. Nakahara, T., Uenoyama, Y., Iwase, A., Oishi, S., Nakamura, S., Minabe, S., Watanabe, Y., Deura, C., Noguchi, T., Fujii, N., Kikkawa, F.,

- Maeda, K. & Tsukamura, H. (2013) Chronic peripheral administration of kappa-opioid receptor antagonist advances puberty onset associated with acceleration of pulsatile luteinizing hormone secretion in female rats. *J Reprod Dev* 59, 479-484.
37. Uenoyama, Y., Tsukamura, H. & Maeda, K. (2014) KNDy neuron as a gatekeeper of puberty onset. *J Obstet Gynaecol Res* 40, 1518-1526.
38. Vazquez, M.J., Romero-Ruiz, A. & Tena-Sempere, M. (2015) Roles of leptin in reproduction, pregnancy and polycystic ovary syndrome: consensus knowledge and recent developments. *Metabolism* 64, 79-91.
39. Castellano, J.M. & Tena-Sempere, M. (2016) Metabolic control of female puberty: potential therapeutic targets. *Expert Opin Ther Targets* 20, 1181-1193.
40. Manfredi-Lozano, M., Roa, J. & Tena-Sempere, M. (2017) Connecting metabolism and gonadal function: Novel central neuropeptide pathways involved in the metabolic control of puberty and fertility. *Front Neuroendocrinol*.
41. Castellano, J.M., Navarro, V.M., Fernandez-Fernandez, R., Roa, J., Vigo, E., Pineda, R., Dieguez, C., Aguilar, E., Pinilla, L. & Tena-Sempere, M. (2006) Expression of hypothalamic KiSS-1 system and rescue of defective gonadotropic responses by kisspeptin in streptozotocin-induced diabetic male rats. *Diabetes* 55, 2602-2610.
42. Smith, J.T., Acohido, B.V., Clifton, D.K. & Steiner, R.A. (2006) KiSS-1 neurones are direct targets for leptin in the ob/ob mouse. *J Neuroendocrinol* 18, 298-303.
43. Backholer, K., Smith, J.T., Rao, A., Pereira, A., Iqbal, J., Ogawa, S., Li, Q. & Clarke, I.J. (2010) Kisspeptin cells in the ewe brain respond to leptin and communicate with neuropeptide Y and proopiomelanocortin cells. *Endocrinology* 151, 2233-2243.
44. Qiu, J., Fang, Y., Bosch, M.A., Ronnekleiv, O.K. & Kelly, M.J. (2011) Guinea pig kisspeptin neurons are depolarized by leptin via activation of TRPC channels. *Endocrinology* 152, 1503-1514.
45. Luque, R.M., Kineman, R.D. & Tena-Sempere, M. (2007) Regulation of hypothalamic expression of KiSS-1 and GPR54 genes by metabolic factors: analyses using mouse models and a cell line. *Endocrinology* 148, 4601-4611.
46. Morelli, A., Marini, M., Mancina, R., Luconi, M., Vignozzi, L., Fibbi, B., Filippi, S., Pezzatini, A., Forti, G., Vannelli, G.B. & Maggi, M. (2008) Sex steroids and leptin regulate the "first Kiss" (KiSS 1/G-protein-coupled receptor 54 system) in human gonadotropin-releasing-hormone-secreting neuroblasts. *J Sex Med* 5, 1097-1113.
47. Quenell, J.H., Howell, C.S., Roa, J., Augustine, R.A., Grattan, D.R. & Anderson, G.M. (2011) Leptin deficiency and diet-induced obesity reduce hypothalamic kisspeptin expression in mice. *Endocrinology* 152, 1541-1550.
48. Cravo, R.M., Margatho, L.O., Osborne-Lawrence, S., Donato, J., Jr., Atkin, S., Bookout, A.L., Rovinsky, S., Frazao, R., Lee, C.E., Gautron, L., Zigman, J.M. & Elias, C.F. (2011) Characterization of Kiss1 neurons using transgenic mouse models. *Neuroscience* 173, 37-56.
49. Cravo, R.M., Frazao, R., Perello, M., Osborne-Lawrence, S., Williams, K.W., Zigman, J.M., Vianna, C. & Elias, C.F. (2013) Leptin signaling in kiss1 neurons arises after pubertal development. *PLoS One* 8, e58698.
50. Qiu, X., Dao, H., Wang, M., Heston, A., Garcia, K.M., Sangal, A., Dowling, A.R., Faulkner, L.D., Molitor, S.C., Elias, C.F. & Hill, J.W. (2015) Insulin and Leptin Signaling Interact in the Mouse Kiss1 Neuron during the Peripubertal Period. *PLoS One* 10, e0121974.
51. Donato, J., Jr., Cravo, R.M., Frazao, R., Gautron, L., Scott, M.M., Lachey, J., Castro, I.A., Margatho, L.O., Lee, S., Lee, C., Richardson, J.A., Friedman, J., Chua, S., Jr., Coppari, R., Zigman, J.M., Elmquist, J.K. & Elias, C.F. (2011) Leptin's effect on puberty in mice is relayed by the ventral premammillary nucleus and does not require signaling in Kiss1 neurons. *J Clin Invest* 121, 355-368.
52. Bellefontaine, N., Chachlaki, K., Parkash, J., Vannacker, C., Colledge, W., d'Anglemont de Tassigny, X., Garthwaite, J., Bouret, S.G. & Prevot, V. (2014) Leptin-dependent neuronal NO signaling in the preoptic hypothalamus facilitates reproduction. *J Clin Invest* 124, 2550-2559.
53. Messina, A., Langlet, F., Chachlaki, K., Roa, J., Rasika, S., Jouy, N., Gallet, S., Gaytan, F., Parkash, J., Tena-Sempere, M., Giacobini, P. & Prevot, V. (2016) A microRNA switch regulates the rise in hypothalamic GnRH production before puberty. *Nat Neurosci* 19, 835-844.
54. Sangiao-Alvarellos, S., Manfredi-Lozano, M., Ruiz-Pino, F., Navarro, V.M., Sanchez-Garrido,

M.A., Leon, S., Dieguez, C., Cordido, F., Matagne, V., Dissen, G.A., Ojeda, S.R., Pinilla, L. & Tena-Sempere, M. (2013) Changes in hypothalamic expression of the Lin28/let-7 system and related microRNAs during postnatal maturation and after experimental manipulations of puberty. *Endocrinology* 154, 942-955.

55. Lomniczi, A., Wright, H. & Ojeda, S.R. (2015) Epigenetic regulation of female puberty. *Front Neuroendocrinol* 36, 90-107. Abstract

Early nutrition and puberty

Julie A. Chowen

Hosp. Infantil Universitario Niño Jesús, Inst. de Investigación Biomédica la Princesa, CIBER de Obesidad y Nutrición (CIBEROBN). Madrid

The age at which an individual initiates puberty is determined by genetic and environmental factors, including both nutritional and social influences. It is suggested that early overnutrition or undernutrition could modify the timing of pubertal onset. Early neonatal overnutrition due to increased food availability modifies the timing of pubertal onset in rats. Leptin may be one factor involved as neonatal overnutrition not only increases leptin levels during the critical period of hypothalamic development, but it also modifies the response to leptin during the peripubertal period. Early overnutrition affects hypothalamic glial cell development and function indicating that, in addition to changes in the development of neuronal circuits, modifications in glial cells may also be involved in the long-term effects of early nutritional changes on metabolism and reproduction. During development, leptin levels can also be modified by factors such as stress. Experimental models of maternal deprivation (MD) during neonatal life have been shown to induce long-term effects on numerous systems, including reproduction and metabolism. Indeed, we have shown that MD for 24 hours starting on post-natal day (PND) 9 not only reduces body weight throughout life, but it also affects the age at which external signs of puberty appear in rats. During the period of MD, there are changes in cell turnover, neurotrophic factors, and markers of neuronal and glial maturation in the hypothalamus, indicating effects on hypothalamic development. The fact that this experimental manipulation abolishes the physiological neonatal leptin surge, suggests that changes in the levels of this hormone during a critical period of development could participate in the observed effects on pubertal onset. Indeed, leptin treatment of neonatal rats also modifies the timing of pubertal onset, in both control and MD rats ⁽¹⁻⁴⁾.

This conference will review what we have observed to date regarding the effects of MD and neonatal overnutrition on hypothalamic development and pubertal onset. The fact that these experimental paradigms differentially affect males and females will also be stressed.

Disclosure

No potential conflict of interest in relation to this presentation.

References

1. Viveros MP, Llorente R, Díaz F, Romero-Zerbo SY, Bermudez-Silva FJ, Rodríguez de Fonseca F, et al. Maternal deprivation has sexually dimorphic long-term effects on hypothalamic cell-turnover, body weight and circulating hormone levels. *Horm Behav.* 2010;58(5):808-19.
2. Castro-González D, Fuente-Martín E, Sánchez-Garrido MA, Argente-Arizón P, Tena-Sempere M, Barrios V, et al. Increased prepubertal body weight enhances leptin sensitivity in proopiomelanocortin and neuropeptide y neurons before puberty onset in female rats. *Endocrinology.* 2015; 156(4): 1272-82.
3. Mela V, Díaz F, Vázquez MJ, Argente J, Tena-Sempere M, Viveros MP, Chowen JA. Interaction between neonatal maternal deprivation and serum leptin levels on metabolism, pubertal development, and sexual behavior in male and female rats. *Biol Sex Differ.* 2016 Jan 11;7:2. doi: <https://dx.doi.org/10.1186/s13293-015-0054-6>.
4. Argente-Arizón P, Ros P, Díaz F, Fuente-Martín E, Castro-González D, Sánchez-Garrido MÁ, et al. Age and sex dependent effects of early overnutrition on metabolic parameters and the role of neonatal androgens. *Biol Sex Differ.* 2016 May 18;7:26. doi: <https://dx.doi.org/10.1186/s13293-016-0079-5>.

Correspondencia:

Julie A. Chowen, Hosp. Infantil Universitario Niño Jesús, Inst. de Investigación Biomédica la Princesa, CIBER de Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Madrid
E-mai: jachowen@gmail.com

Glia y pubertad

LM García-Segura¹, JA Chowen²

¹Inst. Cajal, CSIC, Madrid y CIBERFES, ISCIII, Madrid

²Hosp. Univ. Infantil Niño Jesús, IIS Princesa, UAM, Madrid y CIBEROBN, ISCIII, Madrid

Durante muchos años las células gliales se consideraron meros elementos de soporte estructural y metabólico para las neuronas en el sistema nervioso. En los últimos años se ha demostrado que células gliales como los astrocitos también participan en el procesamiento de información y se comunican con las neuronas mediante transmisores, que se han denominado gliotransmisores. A su vez, la actividad de los astrocitos se modula por los neurotransmisores liberados por las neuronas. Los astrocitos se comunican entre sí mediante uniones gap y forman redes interconectadas por las que se propaga la actividad mediante ondas de calcio. En el cerebro humano y en el de los roedores los astrocitos mantienen contactos morfológicos con el soma de las neuronas que producen la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) en el hipotálamo. Además, un tipo especial de células gliales localizadas en el hipotálamo, llamadas tanicitos, establecen una barrera entre las terminales de las neuronas GnRH y los capilares de la eminencia media que transportan la GnRH a la adenohipófisis. Durante la pubertad se activa un mecanismo de señalización entre los astrocitos, los tanicitos, las neuronas GnRH y las células endoteliales de la eminencia media. Los astrocitos liberan varios factores que regulan la actividad de las neuronas GnRH. Por ejemplo, los astrocitos liberan prostaglandina E2 (PGE2), que promueve el disparo de las neuronas GnRH y al mismo tiempo provoca una retracción de las prolongaciones de los tanicitos, permitiendo que los terminales de las neuronas GnRH liberen su contenido en los capilares de la eminencia media. Los astrocitos también liberan el factor de crecimiento transformante beta, el cual induce la síntesis de PGE2 en los tanicitos y en consecuencia la retracción de sus prolongaciones. Además, el estradiol, actuando sobre receptores de estrógeno en las células endoteliales de los capilares de la eminencia media, induce la liberación de

óxido nítrico por estas células, el cual a su vez induce la liberación de PGE2 por los tanicitos y la retracción de sus prolongaciones. Por otra parte, la PGE2 induce cambios morfológicos en los astrocitos asociados a las neuronas GnRH y estos cambios se ven acompañados por modificaciones en el número de contactos sinápticos sobre estas células. También se producen cambios en la envuelta astrocitaria y el número de contactos inhibitorios sobre neuronas del núcleo arcuato hipotalámico que pueden estar relacionadas con el control de las neuronas GnRH. Finalmente, el estradiol induce la síntesis de progesterona por los astrocitos hipotalámicos. La progesterona astrocitaria contribuye a aumentar la síntesis de kisspeptina, la cual regula la liberación de GnRH. Además, los astrocitos, a través de uniones gap, regulan la actividad sincronizada de las neuronas kisspeptina. En resumen, los astrocitos y los tanicitos participan, mediante diversos mecanismos, en el control neuroendocrinológico de la pubertad ⁽¹⁻³⁾.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no presentan ningún conflicto de intereses en relación con esta presentación.

Referencias Bibliográficas

1. Sharif A, Baroncini M, Prevot V. Role of glia in the regulation of gonadotropin-releasing hormone neuronal activity and secretion. *Neuroendocrinology*. 2013;98(1):1-15.
2. Ojeda SR, Lomniczi A, Sandau U. Contribution of glial-neuronal interactions to the neuroendocrine control of female puberty. *Eur J Neurosci*. 2010;32(12):2003-10.
3. Clasadonte J, Poulain P, Hanchate NK, Corfas G, Ojeda SR, Prevot V. Prostaglandin E2 release from astrocytes triggers gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neuron firing via EP2 receptor activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(38):16104-9.

Correspondencia:

LM García-Segura, Inst. Cajal, CSIC, Madrid y CIBERFES, ISCIII, Madrid
E-mai: lmgsc@cajal.csic.es

Molecular Advances in the Diagnosis of Central Precocious Puberty

Ana C. Latronico

Unidade de Endocrinologia do Desenvolvimento. Lab. de Hormônios e Genética Molecular/LIM42, Hosp. das Clínicas, Disciplina de Endocrinologia, Faculdade de Medicina da Univ. de São Paulo. São Paulo (Brasil)

Abstract

Central precocious puberty results from the premature activation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. Recent studies have implicated genetic changes in the etiology of central precocious puberty in children, previously termed idiopathic, including chromosomal abnormalities and gene mutations. To date, heterozygous loss-of-function mutations in the *MKRN3*, an imprinted gene located at 15q11, are a common cause of familial CPP (up to 46%), affecting both sexes. Familial segregation analysis clearly demonstrated autosomal dominant inheritance with complete penetrance, but with exclusive paternal transmission, consistent with the monoallelic expression of *MKRN3*. More recently, a complex heterozygous defect of delta-like 1 homolog (*DLK1*), another maternally imprinted gene, located at chromosome 14q, was identified in a family with nonsyndromic central precocious puberty. The importance of *MKRN3* and *DLK1* genes in the human pubertal development was reinforced by large genome association studies of the age of menarche in European women. The mystery of puberty initiation and its deviations just start to be unraveled, illustrating the complexity of the system comprising gene and epigenetic modifications.

Key Words: *Central Precocious Puberty, mutations, MKRN3, DLK1, Genetics*

Introduction

Central precocious puberty (CPP) results from the premature activation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis^(1,2). It mimics physiological pubertal development, although at an inappropriate chronological age. CPP is clinically defined by the development of secondary sexual features before 8 years in girls and 9 years in boys⁽²⁾. Several congenital malformations and acquired insults have been associated with CPP^(1,2). The range of causes is similar in boys and girls, although idiopathic disease is much more common in girls. Actually, over 90% of the girls and up to 25% of the boys with CPP have an idiopathic form⁽¹⁾.

Recent studies have implicated genetic changes in the premature reactivation of GnRH secretion, which was previously termed idiopathic⁽³⁾. In the last 10 years, my research group at Sao Paulo University has searched for potential genetic abnormalities associated with sporadic and familial CPP⁽⁴⁻⁶⁾. Initially, candidate gene approach in combination of Sanger sequencing method was used, and although many negative results were obtained, two important data were achieved involving the kisspeptin function^(6,7). More recently, the analysis of familial CPP by next generation sequencing, including exomic and genomic, transformed significantly the current knowledge about the unique pathogenesis of premature sexual development in humans^(4,5).

Familial CPP is usually defined by the existence of more than one affected member either in the proband generation or in the pedigree. It was demonstrated that up to 27.5% of CPP cases were familial⁽⁸⁾. In the majority of these families, the inheritance of the phenotype was consistent with autosomal dominant mode of transmission with incomplete penetrance. Maternal, paternal or both modes of transmission have been described des-

Correspondencia:

Ana C. Latronico, Unidade de Endocrinologia do Desenvolvimento, Lab. de Hormônios e Genética Molecular/LIM42, Hosp. das Clínicas, Disciplina de Endocrinologia, Faculdade de Medicina da Univ. de São Paulo, Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255, 7º andar, sala 7037, 05403-900, São Paulo, Brasil, Tel: 55 11 2661-756
E-mail: anacl@usp.br

Table 1. Monogenic causes of central precocious puberty.

Gene	Locus	Protein Function	Pattern of Inheritance	Type of Mutation	Prevalence
<i>KISS1R</i> (or <i>GPR54</i>)	19p13.3	Kisspeptin receptor	? - Adopted girl	Gain-of-function missense	Very rare
<i>KISS1</i>	1q32	Potent GnRH stimulator	Autosomal dominant with incomplete penetrance	Gain-of-function missense	Very rare
<i>MKRN3</i> (maternal imprinted gene)	15q11.2 (Prader-Willi region)	Protein ubiquitination and RNA binding	Autosomal dominant with complete penetrance (paternal transmission)	Loss-of-function (> 30 mutations were described, missense, frameshift, stop-codons mutations)	33-46% of familial cases
<i>DLK1</i> (maternal imprinted gene)	14q32 (Temple region)	Adipose tissue homeostasis and neurogenesis	Autosomal dominant with complete penetrance (paternal transmission)	Loss-of-function defect (complex deletion)	Still unknown

cribed⁽⁹⁾. To date, monogenic causes of familial CPP were established, and loss-of-function mutations of *MKRN3* are the most prevalent cause of familial CPP (Table 1). Only two mutations, one missense mutation in the gene encoding kisspeptin-1 (*KISS1*) and one in the gene encoding its receptor (*KISS1R*), were associated with CPP, despite screening of a large cohort of patients for mutations in these genes, indicating that mutations in *KISS1* and *KISS1R* genes are uncommon cause of CPP.

***MKRN3* mutations in familial CPP**

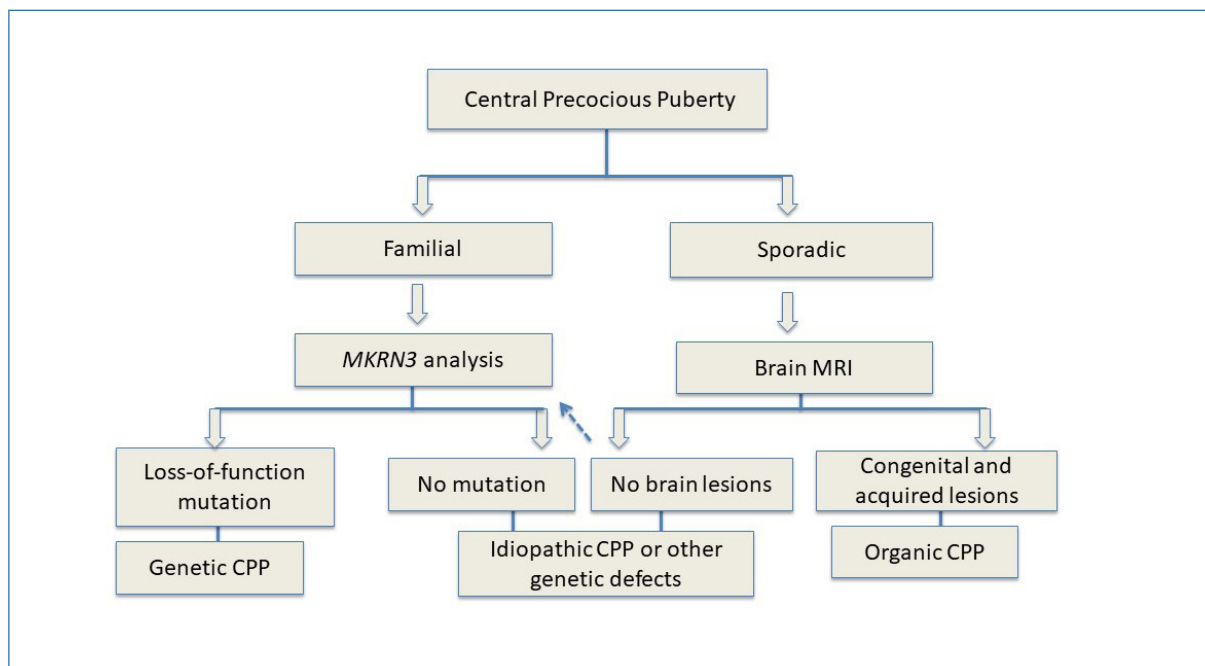
The role of *MKRN3* in the pathogenesis of CPP was first demonstrated in 2013, when whole exome sequence analysis was performed in 40 members of fifteen families with CPP⁴. Rigorous criteria were used to filter the variants and identify the mutations likely to be causative of the phenotype for CPP. In this study, 15 individuals (8 girls, and 7 boys) from 5 families with CPP carried *MKRN3* mutations predicted to be loss-of-function. Patients with CPP due to *MKRN3* mutations had typical clinical and hormonal features of premature activation of the reproductive axis when compared with those CPP patients without mutations.

MKRN3, an intronless gene, is located on a complex imprinted locus in chromosome 15q11.2, a Prader-Willi syndrome critical region. All studied families had autosomal dominant inheritance, and they were consistent with the expected transmission of a paternally expressed gene, it means the mutated allele must be transmitted by the father to cause the phenotype. Complete penetrance of the *MKRN3* defects was lately illustrated by the description of a girl carrying a *MKRN3* mutation detected prior to the onset of puberty⁽¹⁰⁾. She was screened at the age of 4, because her older sister had

developed CPP at 6 years of age due to the *MKRN3* mutation, which was inherited from their asymptomatic father⁽¹⁰⁾. During close follow-up, she initially had increased growth velocity at 6, followed by an increased basal LH level and clinical thelarche with rapid progression (Tanner stage 1-3) at the age of 6.7. This prismatic case demonstrated the possibility of very early or even subclinical diagnosis of CPP cases caused by genetic abnormalities.

More recently, the hormonal and genetic features of 20 male patients from 17 families, who had diagnosis of CPP associated with normal MRI of hypothalamic-pituitary region, were evaluated for potential genetic abnormalities⁽¹¹⁾. After genetic analysis, eight boys from 5 families harbored heterozygous loss-of-function mutations of *MKRN3*. The frequency of *MKRN3* mutations among boys was significantly higher than female data (40% vs. 6.4%, respectively, $p < .001$). Boys with *MKRN3* had later pubertal onset than boys without *MKRN3* abnormalities (median age 8.2 vs. 7.0 years, respectively, $p = .033$). Notably, the determination of age at pubertal onset in boys can be a challenge⁽¹²⁾. Male patients usually remember only late events of puberty, such as the age at initiation of full facial shaving and age of voice change. The borderline early age at pubertal onset in boys with *MKRN3* mutations can compromise the precise identification of puberty by parents and general pediatrics and, therefore, lead to an underestimated incidence of CPP in this group.

A high prevalence of mutations in familial cases has been described (achieving up to 46%), while in sporadic forms of CPP the prevalence was variable, from very low in a cohort of patients from Korea to quite high in boys from Brazil^(13,14). More than 30 different loss-of-function mutations of

Figure 1. Potential strategy for identification of central precocious puberty etiology in girls and boys.

The family history can be a key element for medical decision between genetic test (*MKRN3* analysis) or brain MRI (adapted from Latronico et al.⁽¹⁾)

MKRN3 have been reported in CPP in the last 5 years⁽¹¹⁾. This high prevalence of *MKRN3* mutations in familial cases with CPP can affect the clinical investigation of familial cases, in which genetic studies could precede the brain MRI, that might be postponed (in non mutant cases) or even avoided completely in patients who carry *MKRN3* mutations⁽¹⁾ (Figure 1). The financial costs of the genetic analysis of *MKRN3*, an intronless gene, are much lower than the costs of a brain MRI in children, who usually need anesthesia for the scan. Therefore, a reliable family history is a key element for driving the medical decision of whether to do a brain MRI or a genetic test first.

The exact role of *MKRN3* in the reproductive axis has been explored after the identification of human mutations. *MkRN3* mRNA levels were high in the arcuate nucleus of prepubertal female and male mice and decreased immediately before puberty, after day15, and remained low after puberty, suggesting a potential inhibitor role on the reproductive axis⁽⁴⁾. Similar pattern of the circulating *MKRN3* levels was demonstrated in humans. Longitudinal studies of healthy Danish girls and boys demonstrated that circulating *MKRN3* declined prior to pubertal onset⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. A negative correlation between *MKRN3* levels and gonadotropin levels was demonstrated in girls. In addition, it was demonstrated lower *MKRN3* levels in patients with CPP when compared to pre-pubertal age-matched pairs⁽¹⁴⁾.

The precise mechanism by which the inactivation of *MKRN3* leads to the early reactivation of pulsatile GnRH secretion remains to be elucidated. It has been suggested that *MKRN3* is an E3 ubiquitin ligase, similar to other members of makorin family. Once ubiquitinated, the proteins can be targeted to degradation or directed to other intracellular pathways.

A complex defect of *DLK1* gene in a family with CPP

Linkage analysis followed by whole-genome sequencing in an Afro-descendant were performed in a Brazilian family in which 4 girls, including two sisters and two paternal half sisters, had progressive CPP⁽⁶⁾. Their paternal grandmother reported menarche at 9 years old. The children's father had normal pubertal timing, suggesting either incomplete penetrance or an imprinted disorder. *MKRN3* mutation was excluded in this family with CPP. A complex heterozygous defect of *DLK1*, another maternally imprinted gene located at chromosome 14q, was identified in the affected members. The *DLK1* defect was characterized by a 14-kb deletion and 269-bp duplication and only family members who inherited this defect from their father had central precocious puberty, consistent with the known imprinting of *DLK1*⁽⁶⁾. *DLK1*, also known as preadipocyte factor 1, is a transmembrane protein expressed at the cell surface in several embryonic

tissues, endocrine glands and a subset of neurons.

It was known that paternal deletions or maternal unipaternal disomy of chromosome 14q locus result in Temple syndrome, a complex disease characterized by prenatal and post natal growth failure, obesity, central precocious puberty, small hands and feet and neurologic abnormalities⁽¹⁷⁾. However, the Brazilian patients with a complex defect of *DLK1* did not demonstrate additional features of Temple syndrome except for increased fat mass⁽⁵⁾. Interestingly, serum *DLK1* levels were undetectable in all affected individuals, supporting the notion that the genomic deletion leads to complete lack of *DLK1* protein in these individuals⁽⁵⁾. It was known that *Dlk1* expression increases in the hypothalamus between birth and adulthood in mice⁽¹⁸⁾. In addition, Dauber *et al.*⁽⁵⁾ showed that *Dlk1* was expressed in kisspeptin neuron-derived cell lines, supporting a potential neuroendocrine function.

The importance of *MKRN3* and *DLK1* in human puberty initiation was reinforced by large genome-wide studies involving European women⁽¹⁹⁾. Genotype data in up to 370,000 women demonstrated that rare variants near of these imprinted genes exhibit large effects when paternally inherited. Additionally, these variants conferred a substantial decrease in the age of menarche, demonstrating parent-of-origin-specific associations concordant with known parental expression patterns⁽¹⁹⁾.

Conclusions

The initiation of puberty is thought to result from a decrease in factors that inhibit the release of GnRH combined with an increase in stimulatory factors. Human and animal studies recently indicated that *MKRN3* is a strong component of the repressive control of human puberty and represents a new pathway in pubertal regulation. The recent association of a complex genomic defect in *DLK1* with nonsyndromic familial CPP, strongly suggests a role of genomic imprinting in regulating the timing of human puberty.

Disclosure statement

The author has nothing to disclose.

References

- Latronico, A.C., Brito, V.N. & Carel, J.C. (2016) Causes, diagnosis, and treatment of central precocious puberty. *Lancet Diabetes Endocrinol* 4, 265-274.
- Carel, J.C. & Léger, J. (2008) Clinical practice. Precocious puberty. *N Engl J Med* 358, 2366-2377.
- Abreu, A.P. & Kaiser, U.B. (2016) Pubertal development and regulation. *Lancet Diabetes Endocrinol* 4, 254-264.
- Abreu, A.P., Dauber, A., Macedo, D.B., Noel, S.D., Brito, V.N., Gill, J.C., Cukier, P., Thompson, I.R., Navarro, V.M., Gagliardi, P.C., Rodrigues, T., Kochi, C., Longui, C.A., Beckers, D., de Zegher, F., Montenegro, L.R., Mendonca, B.B., Carroll, R.S., Hirschhorn, J.N., Latronico, A.C. & Kaiser, U.B. (2013) Central precocious puberty caused by mutations in the imprinted gene *MKRN3*. *N Engl J Med* 368, 2467-2475.
- Dauber, A., Cunha-Silva, M., Macedo, D.B., Brito, V.N., Abreu, A.P., Roberts, S.A., Montenegro, L.R., Andrew, M., Kirby, A., Weirauch, M.T., Labilloy, G., Bessa, D.S., Carroll, R.S., Jacobs, D.C., Chappell, P.E., Mendonca, B.B., Haig, D., Kaiser, U.B. & Latronico, A.C. (2017) Paternally Inherited *DLK1* Deletion Associated With Familial Central Precocious Puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 102, 1557-1567.
- Teles, M.G., Bianco, S.D., Brito, V.N., Trarbach, E.B., Kuohung, W., Xu, S., Seminara, S.B., Mendonca, B.B., Kaiser, U.B. & Latronico, A.C. (2008) A GPR54-activating mutation in a patient with central precocious puberty. *N Engl J Med* 358, 709-715.
- Silveira, L.F., Teles, M.G., Trarbach, E.B. & Latronico, A.C. (2010) Role of kisspeptin/GPR54 system in human reproductive axis. *Front Horm Res* 39, 13-24.
- de Vries, L., Kauschansky, A., Shohat, M. & Philip, M. (2004) Familial central precocious puberty suggests autosomal dominant inheritance. *J Clin Endocrinol Metab* 89, 1794-1800.
- Durand, A., Bashamboo, A., McElreavey, K. & Brauner, R. (2016) Familial early puberty: presentation and inheritance pattern in 139 families. *BMC Endocr Disord* 16, 50.
- Stecchini, M.F., Macedo, D.B., Reis, A.C., Abreu, A.P., Moreira, A.C., Castro, M., Kaiser, U.B., Latronico, A.C. & Antonini, S.R. (2016) Time Course of Central Precocious Puberty Development Caused by an *MKRN3* Gene Mutation: A Prismatic Case. *Horm Res Paediatr* 86, 126-130.
- Bessa, D.S., Macedo, D.B., Brito, V.N., França, M.M., Montenegro, L.R., Cunha-Silva, M., Silveira, L.G., Hummel, T., Bergadá, I., Braslavsky, D., Abreu, A.P., Dauber, A., Mendonca, B.B.,

- Kaiser, U.B. & Latronico, A.C. (2017) High Frequency of MKRN3 Mutations in Male Central Precocious Puberty Previously Classified as Idiopathic. *Neuroendocrinology* 105, 17-25.
12. Brito, V.N. & Latronico, A.C. (2017) Underdiagnosis of central precocious puberty in boys with loss-of-function mutations of MKRN3. *J Pediatr* 183, 202-203.
 13. Simon, D., Ba, I., Mekhail, N., Ecosse, E., Paulsen, A., Zenaty, D., Houang, M., Jesuran Perelroizen, M., de Filippo, G.P., Salerno, M., Simonin, G., Reynaud, R., Carel, J.C., Léger, J. & de Roux, N. (2016) Mutations in the maternally imprinted gene MKRN3 are common in familial central precocious puberty. *Eur J Endocrinol* 174, 1-8.
 14. Grandone, A., Cirillo, G., Sasso, M., Capristo, C., Tornese, G., Marzuillo, P., Luongo, C., Rosaria Umano, G., Festa, A., Coppola, R., Miraglia Del Giudice, E. & Perrone, L. (2017) MKRN3 levels in girls with central precocious puberty and correlation with sexual hormone levels: a pilot study. *Endocrine*.
 15. Hagen, C.P., Sørensen, K., Mieritz, M.G., Johannsen, T.H., Almstrup, K. & Juul, A. (2015) Circulating MKRN3 levels decline prior to pubertal onset and through puberty: a longitudinal study of healthy girls. *J Clin Endocrinol Metab* 100, 1920-1926.
 16. Busch, A.S., Hagen, C.P., Almstrup, K. & Juul, A. (2016) Circulating MKRN3 Levels Decline During Puberty in Healthy Boys. *J Clin Endocrinol Metab* 101, 2588-2593.
 17. Ioannides, Y., Lokulo-Sodipe, K., Mackay, D.J., Davies, J.H. & Temple, I.K. (2014) Temple syndrome: improving the recognition of an underdiagnosed chromosome 14 imprinting disorder: an analysis of 51 published cases. *J Med Genet* 51, 495-501.
 18. Villanueva, C., Jacquier, S. & de Roux, N. (2012) DLK1 is a somato-dendritic protein expressed in hypothalamic arginine-vasopressin and oxytocin neurons. *PLoS One* 7, e36134.
 19. Day, F.R., Thompson, D.J., Helgason, H., Chasman, D.I., Finucane, H., Sulem, P., Ruth, K.S., Whalen, S., Sarkar, A.K., Albrecht, E., Altmaier, E., Amini, M., Barbieri, C.M., Boutin, T., Campbell, A., Demerath, E., Giri, A., He, C., Hottenga, J.J., Karlsson, R., Kolcic, I., Loh, P.R., Lunetta, K.L., Mangino, M., Marco, B., McMahon, G., Medland, S.E., Nolte, I.M., Noordam, R., Ntile, T., Paternoster, L., Perjakova, N., Porcu, E., Rose, L.M., Schraut, K.E., Segrè, A.V., Smith, A.V., Stolk, L., Teumer, A., Andrulis, I.L., Bandinelli, S., Beckmann, M.W., Benitez, J., Bergmann, S., Bochud, M., Boerwinkle, E., Bojesen, S.E., Bolla, M.K., Brand, J.S., Brauch, H., Brenner, H., Broer, L., Brüning, T., Buring, J.E., Campbell, H., Catamo, E., Chanock, S., Chenevix-Trench, G., Corre, T., Couch, F.J., Cousminer, D.L., Cox, A., Crisponi, L., Czene, K., Davey Smith, G., de Geus, E.J.C.N., de Mutsert, R., De Vivo, I., Dennis, J., Devilee, P., Dos-Santos-Silva, I., Dunning, A.M., Eriksson, J.G., Fasching, P.A., Fernández-Rhodes, L., Ferrucci, L., Flesch-Janys, D., Franke, L., Gabrielson, M., Gandin, I., Giles, G.G., Grallert, H., Gudbjartsson, D.F., Guénel, P., Hall, P., Hallberg, E., Hamann, U., Harris, T.B., Hartman, C.A., Heiss, G., Hooning, M.J., Hopper, J.L., Hu, F., Hunter, D.J., Ikram, M.A., Im, H.K., Järvelin, M.R., Joshi, P.K., Karasik, D., Kellis, M., Kutalik, Z., LaChance, G., Lambrechts, D., Langenberg, C., Launer, L.J., Laven, J.S.E., Lenarduzzi, S., Li, J., Lind, P.A., Lindstrom, S., Liu, Y., Luan, J., Mägi, R., Mannermaa, A., Mbarek, H., McCarthy, M.I., Meisinger, C., Meitinger, T., Menni, C., Metspalu, A., Michailidou, K., Milani, L., Milne, R.L., Montgomery, G.W., Mulligan, A.M., Nalls, M.A., Navarro, P., Nevanlinna, H., Nyholt, D.R., Oldehinkel, A.J., O'Mara, T.A., Padmanabhan, S., Palotie, A., Pedersen, N., Peters, A., Peto, J., Pharoah, P.D.P., Pouta, A., Radice, P., Rahman, I., Ring, S.M., Robino, A., Rosendaal, F.R., Rudan, I., Rueedi, R., Ruggiero, D., Sala, C.F., Schmidt, M.K., Scott, R.A., Shah, M., Sorice, R., Southey, M.C., Sovio, U., Stampfer, M., Steri, M., Strauch, K., Tanaka, T., Tikkanen, E., Timpson, N.J., Traglia, M., Truong, T., Tyrer, J.P., Uitterlinden, A.G., Edwards, D.R.V., Vitart, V., Völker, U., Vollenweider, P., Wang, Q., Widen, E., van Dijk, K.W., Willemsen, G., Winqvist, R., Wolfenbuttel, B.H.R., Zhao, J.H., Zoledziowska, M., Zygmont, M., Alizadeh, B.Z., Boomsma, D.I., Ciullo, M., Cucca, F., Esko, T., Franceschini, N., Gieger, C., Gudnason, V., Hayward, C., Kraft, P., Lawlor, D.A., Magnusson, P.K.E., Martin, N.G., Mook-Kanamori, D.O., Nohr, E.A., Polasek, O., Porteous, D., Price, A.L., Ridker, P.M., Snieder, H., Spector, T.D., Stöckl, D., Toniolo, D., Ulivi, S., Visser, J.A., Völzke, H., Wareham, N.J., Wilson, J.F., Spurdle, A.B., Thorsteindottir, U., Pollard, K.S., Easton, D.F., Tung, J.Y., Chang-Claude, J., Hinds, D., Murray, A., Murabito, J.M., Stefansson, K., Ong, K.K., Perry, J.R.B., Study, L.C., Consortium, I., Investigators, k.A., Consortium, E.C.A., Consortium, O.C.A. & consortium, P. (2017) Genomic analyses identify hundreds of variants associated with age at menarche and support a role for puberty timing in cancer risk. *Nat Genet* 49, 834-841.

Molecular advances in the diagnosis of delayed puberty

SR Howard, L Dunkel

Centre for Endocrinology, William Harvey Research Inst., Barts and the London School of Medicine and Dentistry, Queen Mary Univ. of London. London (UK)

Abstract

The pathogenesis of delayed puberty (DP) encompasses several conditions including functional hypogonadism, most commonly due to self-limited (also known as constitutional) DP, GnRH deficiency leading to hypogonadotropic hypogonadism, and disorders causing primary hypogonadism. Whilst many of the genetic defects responsible for the latter two groups have been identified in the last decade, the genetic basis of self-limited DP remains to a great degree an unsolved mystery. Self-limited DP is a highly heritable trait, which often segregates in an autosomal dominant pattern; however, its neuroendocrine pathophysiology and genetic regulation remain unclear. Some insights into the genetic mutations that lead to familial DP have come from sequencing genes known to cause GnRH deficiency, most recently via next generation sequencing, and others from large-scale genome wide association studies in the general population. Results of these studies suggest that a variety of different pathogenic mechanisms affecting the release of the puberty 'brake' can lead to self-limited DP. These include abnormalities of GnRH neuronal development and function, GnRH receptor and LH/FSH abnormalities, metabolic and energy homeostasis derangements and transcriptional regulation of the HPG axis. Thus, genetic causes of DP may have effects as early as in fetal life, throughout early childhood and on into adolescence.

Key Words: Puberty, Pubertal timing, Delayed puberty, Self-limited delayed puberty, Constitutional delay, Puberty Genetics, IGSF10

Introduction

The development of the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis is both complex and fascinating, as GnRH neurons develop in metazoan embryos outside of the central nervous system and migrate alongside vomeronasal neurons during fetal life. Immature GnRH precursor neurons are first detectable in the olfactory placode in the nose from an early embryological stage, and then begin a complex journey towards the hypothalamus⁽¹⁾.

The HPG axis is active in fetal and then in early infant life, the so-called 'mini-puberty', but thereafter becomes dormant between the age of one and eight-to-nine years⁽²⁾. Development of the clinical features of puberty is initiated by the reactivation of the HPG axis after this relative quiescence during childhood. What drives this suppression of the axis during childhood, and what controls the release of this 'brake' and the timing at which this occurs, is poorly understood.

Despite the demonstrated importance of environmental factors such as body mass, psychosocial stressors and endocrine disrupting chemicals (EDCs)⁽³⁾, genetic influence on the timing of puberty is clearly fundamental. Whilst the timing of pubertal onset varies within and between different populations, it is a highly heritable trait. Twin studies demonstrate that the timing of sexual maturation is highly correlated between highly related individuals, suggesting strong genetic determinants⁽⁴⁾. Previous studies estimate that 60-80% of the variation in pubertal onset is under genetic regulation^(5, 6). However, despite this strong heritability, the key genetic

Correspondencia:

L Dunkel, Centre for Endocrinology, William Harvey Research Inst., Barts and the London School of Medicine and Dentistry, Queen Mary Univ. of London, London, UK,
Tel: 0207 882 6235
E-mail: l.dunkel@qmul.ac.uk
E-mail: s.howard@qmul.ac.uk

factors that determine human pubertal timing in the normal population and in cases of disturbed pubertal timing remain mostly unknown⁽⁷⁾.

Pubertal reactivation of the hypothalamic-pituitary axis

Kisspeptin, an excitatory neuropeptide, was identified as a permissive factor in puberty onset by the discovery of patients with GnRH deficiency with loss-of-function mutations in the *KISS1* receptor, *KISS1R* (previously known as *GPR54*)^(8, 9). Mice with knockout of *Kiss1r* were simultaneously discovered to be infertile despite anatomically normal GnRH neurons and normal hypothalamic GnRH levels⁽⁹⁾, with a phenotype consistent with normosmic GnRH deficiency. However, despite a large body of evidence for kisspeptin as one of the most important gatekeepers of GnRH neuronal function, only very rarely have human mutations in *KISS1* been found in patients with delayed or absent puberty⁽¹⁰⁾.

The excitatory neuropeptide, neurokinin b, also plays a role in the upstream control of GnRH secretion. Identification of this pathway was also via discovery of loss-of-function mutations in *TAC3*, encoding neurokinin b, and its receptor *TACR3*, in patients with normosmic GnRH deficiency and pubertal failure⁽¹¹⁾. Kisspeptin, neurokinin b and dynorphin are coexpressed in KNDy neurons of the arcuate nucleus of the hypothalamus⁽¹²⁾, which project to and directly interact with GnRH neurons. Their expression is downregulated by oestrogen and testosterone as part of the negative feedback regulation of gonadotropin secretion^(13, 14). However, administration of neurokinin b agonists failed to stimulate GnRH release in rodents, and *Tacr3* knockout mice have grossly normal fertility^(15, 16). Of 50 self-limited DP patients investigated for mutations in *TAC3* and *TACR3*, only one mutation in a single patient was found in the latter gene⁽¹⁷⁾.

The inhibitory role of GABAergic neurotransmission has been clearly shown in primates⁽¹⁸⁾ but is more ambiguous in rodents. Opioid peptides provide additional inhibitory input but this appears to be less critical than the GABAergic signals in restraining the initiation of puberty⁽¹⁹⁾. Additionally, *RFamide-related peptide gene* (*RFRP*), the mammalian ortholog of the avian peptide *gonadotrophin-inhibiting hormone* (*GnIH*), has been identified as a further inhibitory regulator of GnRH neuronal activity in mice⁽²⁰⁾. Glial inputs appear to be predominantly facilitatory during puberty and consist of growth factors and small diffusible molecules, including TGFβ1, IGF-1 and neuregulins, that directly or indirectly stimulate GnRH secretion⁽²¹⁾.

Upstream regulation of GnRH transcription is less well established. Candidate transcriptional regula-

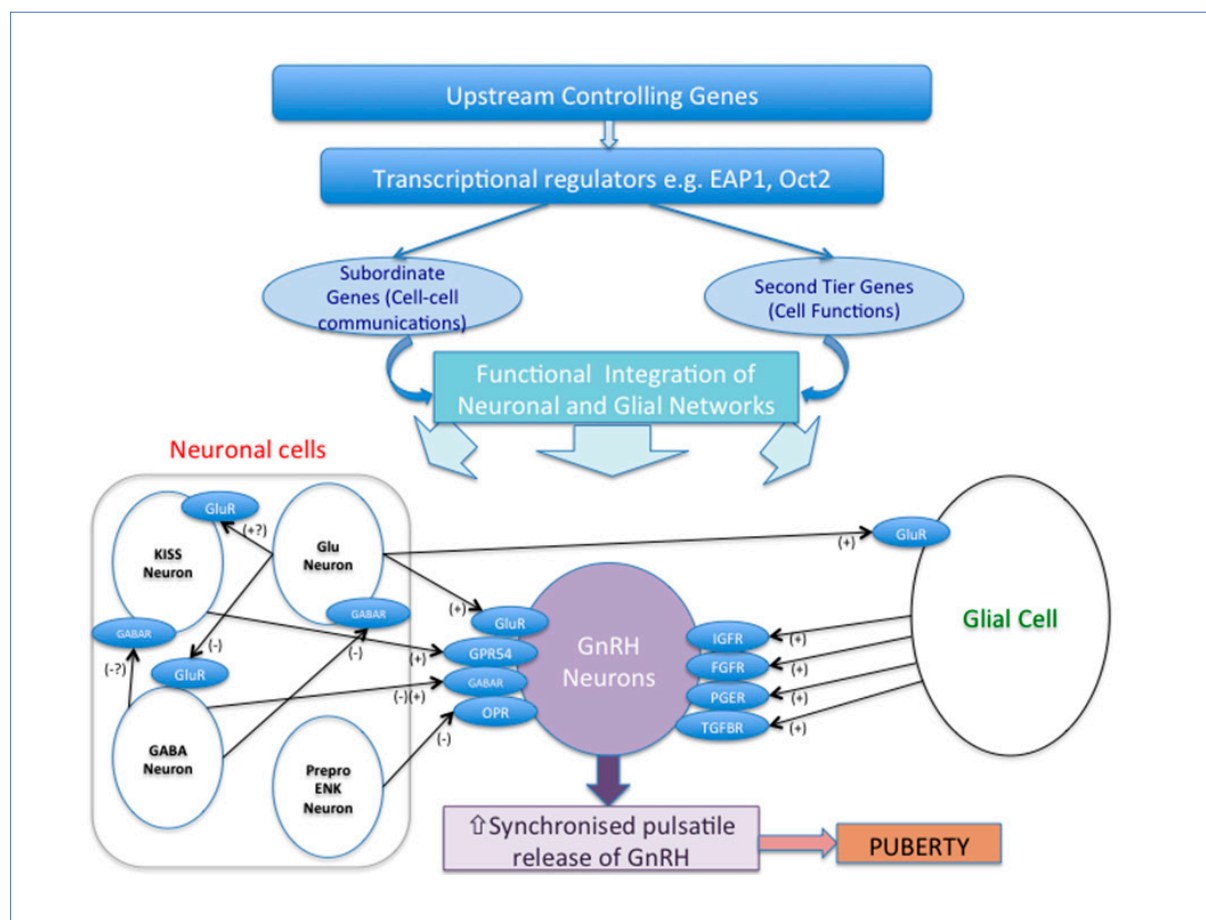
tors identified from a systems biology approach and animal models include *Oct-2*, TTF-1 and *EAP1*⁽²²⁾ (Figure 1). *Oct-2* mRNA is upregulated in the hypothalamus in juvenile rodents, blockage of *Oct-2* synthesis delays age at first ovulation whilst activation of *Oct-2* expression (e.g. hamartomas) induces precocious puberty⁽²³⁾. TTF-1 (thyroid transcription factor-1) enhances GnRH expression, with increased expression in pubertal rhesus monkeys⁽²⁴⁾. *EAP1* mRNA levels also increase in primate and rodent hypothalamus during puberty. *EAP1* transactivates the *GnRH* promoter, and *EAP1* knockdown with siRNA caused DP and disrupted estrous cyclicity in a rodent model⁽²⁵⁾. However, to date no mutations in these upstream or regulatory factors have been reported in patients with DP.

Epigenetic regulators are potential modulators of pubertal timing. Recent evidence highlights the importance in mice of microRNAs (particularly the miR-200/429 family and miR-155) in the epigenetic up-regulation of GnRH transcription during the critical period (murine equivalent of the mini-puberty)⁽²⁶⁾. Moreover, miR-7a2, has been demonstrated to be essential for normal pituitary development and HPG function, with deletion in mice leading to hypogonadotropic infertility⁽²⁷⁾. The effects of environmental changes on the hypothalamic regulation of puberty may also be mediated via epigenetic mechanisms. In particular, epigenetic changes during foetal life are a potential mechanism for the effects of EDCs in utero⁽²⁸⁾.

Etiologies underlying Delayed Puberty

Self-limited delayed puberty (DP), also known as constitutional delay of growth and puberty (CDGP), represents the commonest cause of DP in both sexes. Up to 83% of boys with pubertal delay have self-limited DP⁽²⁹⁻³²⁾. Individuals with self-limited DP lie at the extreme end of normal pubertal timing, with the absence of testicular enlargement in boys or breast development in girls at an age that is 2 to 2.5 standard deviations (SD) later than the population mean⁽⁷⁾. In addition, self-limited DP may also encompass older children with delayed pubertal progression, a diagnosis that is aided by the use of puberty normograms⁽³¹⁾. Self-limited DP is associated with adverse health outcomes including short stature, reduced bone mineral density and compromised psychosocial health⁽³³⁾.

There are three main groups of differential diagnosis of self-limited DP (Table 1)^(7, 29), although up to 30 different etiologies underlying DP have been identified⁽³²⁾: hypergonadotropic hypogonadism, with primary gonadal failure leading to elevated gonadotropin levels due to lack of negative feedback; functional hypogonadotropic hypogona-

Figure 1. Genetic regulators in the trans-synaptic and glial control of GnRH neurons during puberty.

(Adapted from ref. 19).

Table 1. Differential Diagnoses of Self-Limited Delayed Puberty.

	Hypergonadotropic Hypogonadism	Hypogonadotropic Hypogonadism	Functional Hypogonadotropic Hypogonadism
Common Causes:	Klinefelter Syndrome Gonadal dysgenesis including Turner's syndrome Chemotherapy/ Radiation Therapy	Isolated Hypogonadotropic Hypogonadism Kallmann syndrome Combined Pituitary Hormone Deficiency Chemotherapy/ Radiation Therapy CNS Tumours/ Infiltrative Diseases	Inflammatory Bowel Disease Celiac Disease Anorexia Nervosa Hypothyroidism Excessive Exercise

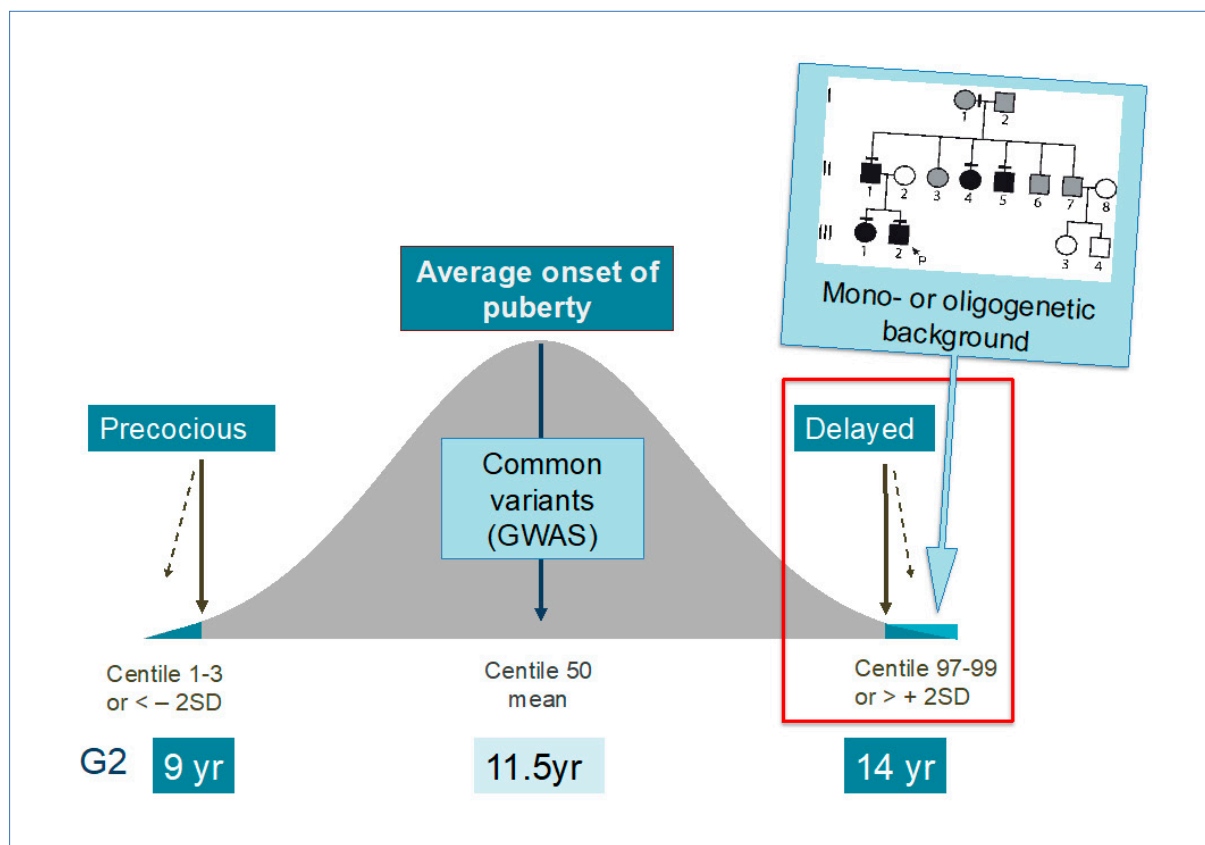
Table modified and reprinted with permission from Palmert MR, Dunkel L. Clinical practice. Delayed puberty. N Engl J Med 2012;366:443-53.

dism, where late pubertal development is due to maturational delay in the HPG axis secondary to chronic disease, malnourishment, excessive exercise, psychological or emotional stress; and permanent hypogonadotropic hypogonadism, characterized by low LH and FSH levels. This last condition is due to congenital hypothalamic or pituitary disorders, or an acquired central dysfunction secondary to irradiation, tumour or vascular lesion.

The Inheritance and Genetic Background of Self-Limited Delayed Puberty

Self-limited DP segregates within families with complex patterns of inheritance including autosomal dominant, autosomal recessive, bilineal and X-linked⁽³⁴⁾, although sporadic cases are also observed (Figure 2). The majority of families display an autosomal dominant pattern of inheritance (with or without complete penetrance)^(4, 34). 50 to 75% of subjects with

Figure 2. The Genetics of Pubertal Timing.



In the general population there is a near-normal distribution of the timing of pubertal onset, with the definitions of precocious and delayed being statistically determined (± 2 standard deviations, SD). Cut-off ages for Tanner genital stage G2 defining precocious and delayed puberty in boys are given. Strategies to determine key genetic determinants in the timing of puberty include large genome wide association studies (GWAS) of age-at-menarche and voice breaking in the general population, and identification of rare high-impact variants causing early, late or absent puberty in patients and their families.

self-limited DP have a family history of delayed pubertal onset⁽³⁴⁾.

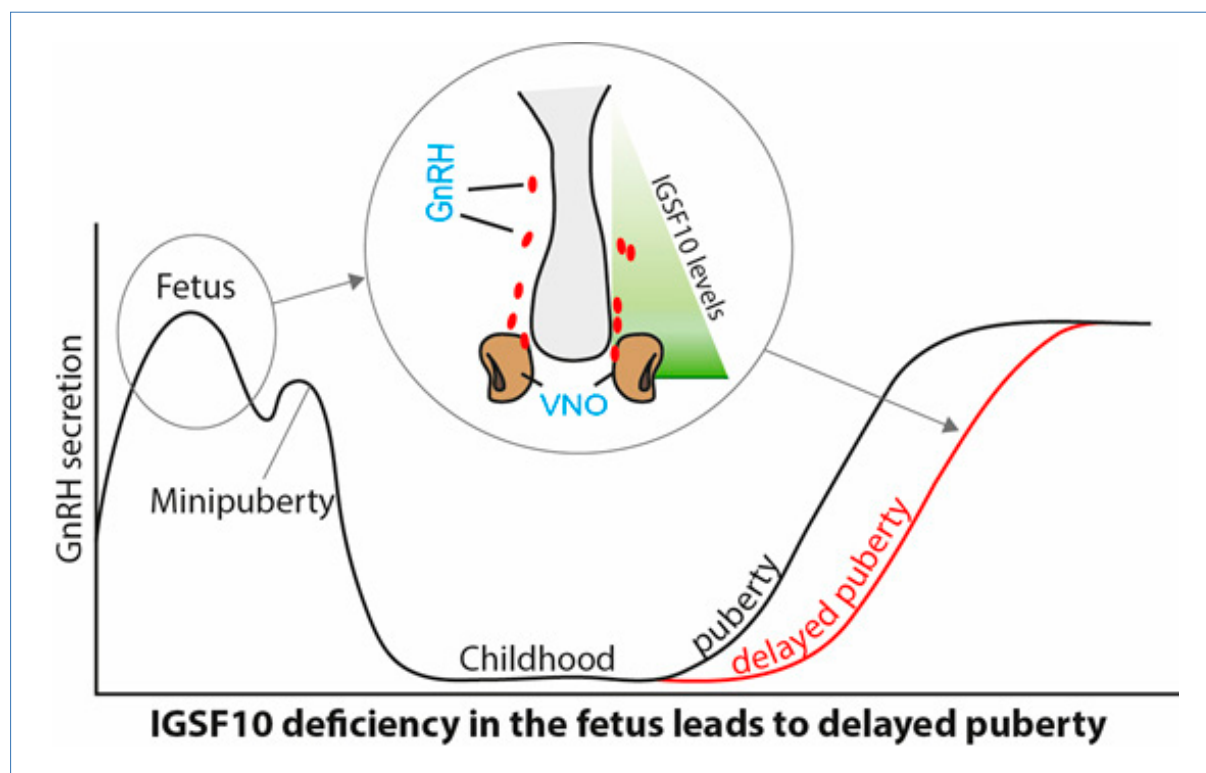
Some insights into the genetic mutations that lead to familial self-limited DP have come from sequencing genes known to cause GnRH deficiency, most recently via next generation sequencing. Linkage analysis and targeted sequencing strategies have been mostly superseded by whole exome and genome sequencing strategies to identify novel candidate genes.

Other candidates have been identified from large-scale genome wide association studies in the general population. Analysis of self-limited DP families is complicated by the fact that this phenotype represents the tail of a normally distributed trait within the population, so it is expected that variants that govern the inheritance of this condition will also be present in the general population at a low level. Thus, the absence of these variants in population databases cannot be used as an exclusion criterion

during filtering of sequencing data. Instead, a comparison of prevalence of such variants must be made to identify those that are enriched in patients compared to the general population. In the majority of patients with DP the neuroendocrine pathophysiology and its genetic regulation remain unclear.

Loss-of-function mutations in a member of the immunoglobulin superfamily, *IGSF1*, have been identified in patients with X-linked central hypothyroidism⁽³⁵⁾. Notably, male patients with *IGSF1* mutations have a late increase in testosterone levels with a delayed pubertal growth spurt. However, pathogenic mutations in *IGSF1* have not been conclusively found in patients with isolated DP⁽³⁶⁾.

More recently, whole exome and targeted resequencing methods have implicated two pathogenic mutations in *IGSF10* as the causal factor for late puberty in six unrelated families from a large Finnish cohort with familial DP⁽³⁷⁾. A further two rare variants of unknown significance were identified in four addi-

Figure 3. Schematic of the mechanism by which *IGSF10* mutations lead to DP.

Reduced levels of *IGSF10* expression during embryogenesis in the corridor of nasal mesenchyme from the vomeronasal organ to the olfactory bulbs result in delayed migration of GnRH neurons to the hypothalamus. This presents for the first time in adolescence as a phenotype of DP due to abnormalities of the GnRH neuronal network.

tional families from the cohort. Mutations in *IGSF10* appear to cause a dysregulation of GnRH neuronal migration during embryonic development (Figure 3). An intact GnRH neurosecretory network is necessary for the correct temporal pacing of puberty. Pathogenic *IGSF10* mutations leading to disrupted *IGSF10* signalling potentially result in reduced numbers or mis-timed arrival of GnRH neurons at the hypothalamus; producing a functional defect in the GnRH neuroendocrine network. With this impaired GnRH system there would follow an increased 'threshold' for the onset of puberty, with an ensuing delay in pubertal timing. *IGSF10* loss-of-function mutations were also discovered in patients with a hypothalamic amenorrhoea-like phenotype. These findings represent a new fetal origin of self-limited DP, and reveal a potential shared pathophysiology between DP and other forms of functional hypogonadism.

Genetics of GnRH deficiency and relevance to DP

At the extreme end of the spectrum of DP are conditions of GnRH deficiency including congenital hypogonadotropic hypogonadism (CHH), with complete failure to enter puberty. The condition may be due to

failure of development of GnRH neurons, lack of activation of GnRH secretion or disrupted GnRH signalling. Because of different causes and incomplete penetrance, there is a wide spectrum of phenotypes, ranging from complete CHH with lack of pubertal development to a partial hypogonadism with an arrest of pubertal development, and reversible CHH in up to 20% of patients post treatment⁽³⁸⁻⁴⁰⁾. Despite recent advances, with over forty genes linked to this disorder identified, the pathophysiological basis of CHH in approximately 50% of individuals remains unclear (Figure 4)⁽²⁾.

Various malformations affecting the development of the prosencephalon may cause GnRH deficiency combined with deficiency of any or all other pituitary hormones. Other congenital midline defects, which may range from holoprosencephaly to cleft lip and palate, can also be associated with variable hypothalamic-pituitary dysfunction.

Genetic defects affecting the development of the anterior pituitary may cause GnRH deficiency. The pituitary transcription factors *LHX3*, *SOX2* and *HESX1* are vital for early patterning of the forebrain and pituitary, and mutations in these developmental genes result in syndromic hypopituitarism with gonadotropin deficiency in humans⁽⁴¹⁾. *PROP1* is im-

portant for the development of gonadotropin-secreting cells and mutations in this gene are the most common cause of combined pituitary hormone deficiency in humans⁽⁴²⁾. Patients with *PROP1* mutations have variable GnRH deficiency ranging from DP to CHH⁽⁴¹⁾. Mutations in *DAX1* cause X-linked adrenal hypoplasia congenita with associated HH, but have not been found in isolated DP⁽⁴³⁾.

GnRH deficiency may also be associated with other conditions, particularly with neurological phenotypes. Mutations in *POLR3A/B* result in the 4H syndrome (Hypomyelination, Hypodontia and Hypogonadotropic Hypogonadism)⁽⁴⁴⁾ whilst those in *RNF216*, *OTUD4* and *PNPLA6* produce the phenotypic combination of HH and ataxia (also known as Gordon-Holmes syndrome)^(45, 46). *DMXL2* mutations are associated with congenital HH, other endocrine deficiencies and polyneuropathies⁽⁴⁷⁾. Dysregulation of the *RAB3* cycle, such as with mutations in *RAB-3GAP1*, lead to Warburg Micro syndrome with ocular, neurodevelopmental and central reproductive defects^(48, 49).

Loss-of-function mutations within the GnRH receptor are the most frequent cause of autosomal recessive CHH, accounting for 16% to 40% of patients. Mutations have been found within the extracellular, transmembrane and intracellular domains of the receptor leading to impaired GnRH action⁽⁵⁰⁾. A homozygous partial loss-of-function mutation in *GNRHR* was found in two brothers, one with self-limited DP and one with idiopathic HH⁽⁵¹⁾, and a further heterozygous mutation found in one male with self-limited DP⁽⁵²⁾. A small cohort of 31 patients was analysed for mutations in *GHSR* and 5 patients were found to have point mutations in this gene⁽⁵³⁾.

Downstream mutations in the GnRH signalling pathway can also present with DP. LH and FSH are glycoprotein hormones encoded by a common α -subunit gene and a specific β -subunit gene. Mutations of the β -subunits genes of LH or FSH are extremely rare causes of pubertal abnormalities⁽⁵⁴⁾. Males with inactivating mutations of the *LHB* have absent pubertal development with Leydig cell hypoplasia leading to T deficiency and azoospermia. Females with inactivating mutations of *LHB* present with onset of normal puberty, but with normal or late menarche followed by infertility due to lack of ovulation⁽⁵⁴⁾. Individuals with inactivating *FSHB* mutations present with incomplete pubertal development and azoospermia in males and primary amenorrhea in females⁽⁵⁵⁾.

In view of the possible overlap between the pathophysiology of DP and conditions of *GnRH* deficiency, a few studies have specifically examined the contribution of mutations in *CHH* genes to the phenotype of self-limited DP. Mutations in *HS6ST1*,

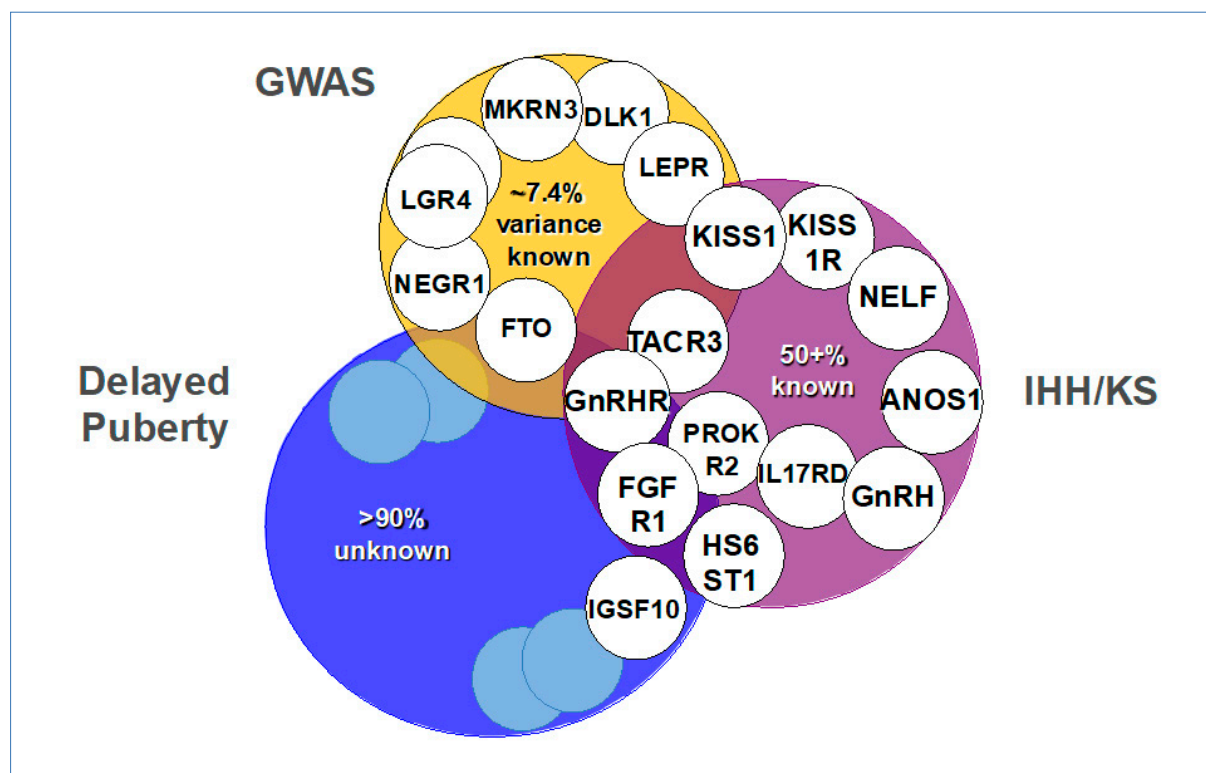
FGFR1 and newly in *KLB* have been found in a small number of kindreds of *CHH* patients and their relatives with DP⁽⁵⁶⁻⁵⁸⁾. Variants in several HH genes including *GNRHR*, *TAC3*, *TACR3*, *IL17RD* and *SEMA3A* have been identified by whole exome sequencing in some cases of DP, including self-limited DP⁽⁵⁹⁾. However, these variants have not been tested in vitro or *in vivo* for pathogenicity and thus may be an over-estimation. Overall, the current picture indicates that the genetic background of HH and DP may be largely different, or shared by as yet undiscovered genes⁽⁵²⁾.

Genetics of pubertal timing in the general population

Attempts to identify key genetic regulators of the timing of puberty in humans have led to several large genome wide association studies (GWAS) of age-at-menarche, examining pubertal timing in healthy women⁽⁶⁰⁻⁶²⁾. These studies demonstrate genetic heterogeneity in pubertal timing, with the observation that the genetic architecture of the timing of puberty in healthy subjects is likely to involve at least hundreds of common variants. The first of many loci associated with age of menarche was the gene *LIN28B*⁽⁶³⁾. *LIN28B* is a human ortholog of the gene that controls, through microRNAs, developmental timing in the *Caenorhabditis elegans*. However, mutations in *LIN28B* have not to date been identified in human patients with DP⁽⁶⁴⁾ or precocious puberty⁽⁶⁵⁾.

The largest study of this type comprises 1000 Genomes Project-imputed genotype data in up to ~370,000 women, and identifies 389 independent signals ($P < 5 \times 10^{-8}$) for age at menarche⁽⁶⁶⁾. Per-allele effect sizes ranged from 1 week to five months. These signals explain ~7.4% of the population variance in age at menarche, corresponding to ~25% of the estimated heritability. Many of these signals have concordant effects on the age at voice breaking, a corresponding milestone in males. However, in women the signals identified had stronger effects on early than on late age of menarche, but in contrast had larger effect estimates for relatively late than relatively early voice breaking in males⁽⁶⁶⁾.

Around 250 genes were identified via coding variation or associated expression, particularly those expressed in neural tissues. Importantly, genes already implicated in rare disorders of puberty were identified, including *LEPR*, *GNRH1*, *KISS1*, *TACR3*. Two imprinted genes were also reported: *MKRN3*, paternally-inherited mutations in which have been identified as causal in pedigrees of central precocious puberty (CPP)⁽⁶⁷⁾; and *DLK1*⁽⁶⁸⁾. *MKRN3* is the third, and to date the most frequently mutated, gene in pedigrees with CPP⁽⁶⁷⁾, the others being *KISS1*⁽⁶⁹⁾ and its receptor *GPR54*⁽⁷⁰⁾ which have been repor-

Figure 4. Overlap between genetic regulation in the general population and extreme phenotypes.

Examples of genes implicated in timing of puberty from genome wide association studies in the general population (GWAS), conditions of GnRH deficiency such as idiopathic hypogonadotropic hypogonadism (IHH) and Kallmann Syndrome (KS), and self-limited delayed puberty.

ted only rarely. *MKRN3* is thought to contribute to the puberty 'brake' restraining the *HPG* axis via inhibition of *GnRH* release. Very recently a complex defect in *DLK1* has been identified in one pedigree with CPP⁽⁶⁸⁾, and a gain-of-function mutation in *PROKR2* reported in a girl with sporadic CPP⁽⁷¹⁾. However, neither *MKRN3* nor *DLK1* mutations have been implicated in the pathogenesis of DP (Figure 4).

Delayed puberty due to primary gonadal failure

In gonadal dysgenesis in both males and females, pubertal development may be delayed or entirely absent. In Turner syndrome, the most common form of hypergonadotropic hypogonadism in females, puberty is delayed and usually followed by progressive ovarian failure⁽⁷²⁾. Importantly, however, up to 30% of girls will undergo spontaneous pubertal development and 2 to 5% will have spontaneous menses⁽⁷³⁾. About half of girls with Turner syndrome have the 45,X karyotype. Other causes of ovarian dysgenesis include X isochromosome, where abnormal chromosome division results in duplication of identical chromosome arms, most commonly of the long (q) arm. These patients have streak gonads and a similar phenotype to Turner syndrome. Various mi-

crodeletions on the short and long arm of the X chromosome are also found in women with primary ovarian insufficiency, with several genes implicated including *POF1*, *POF2*, *DIAPH2*, *FOXL2* and *BMF15*⁽⁷⁴⁾. XX gonadal dysgenesis can occur in combination with cerebellar ataxia and learning difficulties, or with multiple malformation syndromes with a range of associated features including microcephaly, limb abnormalities, facial and cardiac defects. Point mutations in the extra-cellular domain of the FSH receptor with subsequent inactivation of the receptor function result in raised FSH levels, variable development of secondary sex characteristics and primary or secondary amenorrhea⁽⁷⁵⁾. Whilst up to 40% of Finnish patients have such a mutation, these appear to be rare in other populations.

In males, testicular abnormalities are characterized by elevated gonadotropin and low inhibin-B concentrations, and may present as pubertal delay. The commonest condition underlying hypergonadotropic hypogonadism in males is Klinefelter syndrome (47, XXY), with a prevalence of 1 in 667 live births. The majority of those affected will enter puberty spontaneously at a normal age⁽⁷⁶⁾, although DP may be seen in those with a more complex karyotype (48, XXYY, 48, XXXY, 49, XXXXY). In the majority of patients with Klinefelter syndrome testosterone le-

vels become increasingly deficient by Tanner stages 4-5, possibly as a result of secondary regression.

Metabolism and timing of puberty

Nutritional changes play an important role in the observed secular trend towards an earlier age of pubertal onset in the developed world⁽⁷⁷⁾, as shown by the positive correlation between age at puberty onset and childhood body size, particularly in girls⁽⁷⁸⁾. In contrast, under-nutrition in females, for example in chronic disease or anorexia nervosa, can result in delay in both the onset and tempo of puberty.⁽⁷⁹⁾

This relationship between fat mass and pubertal timing is mediated, at least in part, through the permissive actions of the metabolic hormone leptin, a key regulator of body mass, produced from white adipose tissue⁽⁸⁰⁾. Humans and mice lacking leptin (*Lep ob/ob*) or the leptin receptor (*LepR db/db*) fail to complete puberty and are infertile⁽⁸¹⁾. GWAS studies of pubertal timing found, in addition to leptin signalling, overlap with several genes implicated in body mass index including *FTO*, *SEC16B*, *TMEM18*, and *NEGR1*⁽⁶⁶⁾. However, whilst self-limited DP in boys is associated with hypoleptinaemia⁽⁸²⁾, there have been no identified association of specific leptin or leptin receptor polymorphisms with DP⁽⁸³⁾. Ghrelin and other gut-derived peptides may also form part of the mechanism by which energy homeostasis regulates reproductive development⁽⁸⁴⁾. Notably, children with CDGP have a dual phenotype of slow growth in childhood with DP. In contrast, both low birth weight and prematurity are associated with earlier onset of puberty⁽⁸⁵⁾, particularly in those children with rapid increase in length or weight in the first two years of life⁽⁸⁶⁾. It remains unclear, however, if childhood obesity, insulin resistance, excess androgens or underlying genetic or epigenetic factors may explain this association⁽⁸⁷⁾.

Conclusions

A wide variety of genetic and epigenetic defects affecting different aspects of the HPG axis at different time periods in fetal and postnatal life may result in delayed and disordered puberty. Although our understanding of the highly complex underlying biological network remains imperfect, results to date demonstrate the importance of defects in GnRH neuronal development and function, GnRH receptor and LH/FSH abnormalities, transcriptional regulation of the HPG axis and metabolic and energy homeostasis derangements in the control of pubertal timing.

Clinically it is important to distinguish between the conditions of DP and idiopathic CHH in adoles-

cents presenting with DP. However, this diagnosis is often a difficult one as both disorders can present with a picture of functional hypogonadotropism and can share an underlying pathophysiology. There is still no definitive test to accurately discriminate between the two diagnoses. More complex and involved management is required in patients with CHH to achieve both development of secondary sexual characteristics and to maximize the potential for fertility⁽⁸⁸⁾. Genetic testing may inform diagnosis of associated syndromic features, likelihood of reversal and inheritance in family members. Rapid and efficient diagnosis of patients in clinic would represent a huge leap forward in patient care and a likely significant economic advantage. While presently next generation sequencing in individuals presenting with delayed or incomplete pubertal development is only a reasonable option in a research setting, future progress in gene discovery and technical developments may facilitate the availability of genetic diagnosis as part of clinical care for patients with both GnRH deficiency and self-limiting DP.

Disclosure

No potential conflict of interest in relation to this presentation.

References

1. Cariboni A, Maggi R, Parnavelas JG. From nose to fertility: the long migratory journey of gonadotropin-releasing hormone neurons. *Trends in neurosciences*. 2007;30(12):638-44.
2. Beate K, Joseph N, Nicolas de R, Wolfram K. Genetics of isolated hypogonadotropic hypogonadism: role of GnRH receptor and other genes. *International journal of endocrinology*. 2012;2012:147893.
3. de Muinich Keizer SM, Mul D. Trends in pubertal development in Europe. *Human reproduction update*. 2001;7(3):287-91.
4. Wehkalampi K, Widen E, Laine T, Palotie A, Dunkel L. Patterns of inheritance of constitutional delay of growth and puberty in families of adolescent girls and boys referred to specialist pediatric care. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2008;93(3):723-8.
5. Gajdos ZK, Hirschhorn JN, Palmert MR. What controls the timing of puberty? An update on progress from genetic investigation. *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity*. 2009;16(1):16-24.

6. Parent AS, Teilmann G, Juul A, Skakkebaek NE, Toppari J, Bourguignon JP. The timing of normal puberty and the age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends, and changes after migration. *Endocrine reviews*. 2003;24(5):668-93.
7. Palmert MR, Dunkel L. Clinical practice. Delayed puberty. *N Engl J Med*. 2012;366(5):443-53.
8. de Roux N, Genin E, Carel JC, Matsuda F, Chaussain JL, Milgrom E. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003;100(19):10972-6.
9. Seminara SB, Messenger S, Chatzidaki EE, Thresher RR, Acierno JS, Jr., Shagoury JK, et al. The GPR54 gene as a regulator of puberty. *N Engl J Med*. 2003;349(17):1614-27.
10. Topaloglu AK, Tello JA, Kotan LD, Ozbek MN, Yilmaz MB, Erdogan S, et al. Inactivating KiSS1 mutation and hypogonadotropic hypogonadism. *N Engl J Med*. 2012;366(7):629-35.
11. Topaloglu AK, Reimann F, Guclu M, Yalin AS, Kotan LD, Porter KM, et al. TAC3 and TACR3 mutations in familial hypogonadotropic hypogonadism reveal a key role for Neurokinin B in the central control of reproduction. *Nature genetics*. 2009;41(3):354-8.
12. de Croft S, Boehm U, Herbison AE. Neurokinin B activates arcuate kisspeptin neurons through multiple tachykinin receptors in the male mouse. *Endocrinology*. 2013;154(8):2750-60.
13. Rance NE. Menopause and the human hypothalamus: evidence for the role of kisspeptin/neurokinin B neurons in the regulation of estrogen negative feedback. *Peptides*. 2009;30(1):111-22.
14. Dungan HM, Clifton DK, Steiner RA. Minireview: kisspeptin neurons as central processors in the regulation of gonadotropin-releasing hormone secretion. *Endocrinology*. 2006;147(3):1154-8.
15. Sandoval-Guzman T, Rance NE. Central injection of senktide, an NK3 receptor agonist, or neuropeptide Y inhibits LH secretion and induces different patterns of Fos expression in the rat hypothalamus. *Brain research*. 2004;1026(2):307-12.
16. Kung TT, Crawley Y, Jones H, Luo B, Gilchrist H, Greenfeder S, et al. Tachykinin NK3-receptor deficiency does not inhibit pulmonary eosinophilia in allergic mice. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society*. 2004;50(6):611-5.
17. Tusset C, Noel SD, Trarbach EB, Silveira LF, Jorge AA, Brito VN, et al. Mutational analysis of TAC3 and TACR3 genes in patients with idiopathic central pubertal disorders. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia*. 2012;56(9):646-52.
18. Mitsushima D, Hei DL, Terasawa E. gamma-Aminobutyric acid is an inhibitory neurotransmitter restricting the release of luteinizing hormone-releasing hormone before the onset of puberty. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1994;91(1):395-9.
19. Ojeda SR, Lomniczi A, Mastronardi C, Heger S, Roth C, Parent AS, et al. Minireview: the neuroendocrine regulation of puberty: is the time ripe for a systems biology approach? *Endocrinology*. 2006;147(3):1166-74.
20. Ducret E, Anderson GM, Herbison AE. RFamide-related peptide-3, a mammalian gonadotropin-inhibitory hormone ortholog, regulates gonadotropin-releasing hormone neuron firing in the mouse. *Endocrinology*. 2009;150(6):2799-804.
21. Ojeda SR, Lomniczi A, Sandau US. Glial-gonadotrophin hormone (GnRH) neurone interactions in the median eminence and the control of GnRH secretion. *Journal of neuroendocrinology*. 2008;20(6):732-42.
22. Ojeda SR, Dubay C, Lomniczi A, Kaidar G, Magtane V, Sandau US, et al. Gene networks and the neuroendocrine regulation of puberty. *Molecular and cellular endocrinology*. 2010;324(1-2):3-11.
23. Ojeda SR, Hill J, Hill DF, Costa ME, Tapia V, Cornea A, et al. The Oct-2 POU domain gene in the neuroendocrine brain: a transcriptional regulator of mammalian puberty. *Endocrinology*. 1999;140(8):3774-89.
24. Lee BJ, Cho GJ, Norgren RB, Jr., Junier MP, Hill DF, Tapia V, et al. TTF-1, a homeodomain gene required for diencephalic morphogenesis, is postnatally expressed in the neuroendocrine brain in a developmentally regulated and cell-specific fashion. *Mol Cell Neurosci*. 2001;17(1):107-26.
25. Heger S, Mastronardi C, Dissen GA, Lomniczi A, Cabrera R, Roth CL, et al. Enhanced at pu-

- erty 1 (EAP1) is a new transcriptional regulator of the female neuroendocrine reproductive axis. *The Journal of clinical investigation*. 2007;117(8):2145-54.
26. Messina A, Langlet F, Chachlaki K, Roa J, Rasika S, Jouy N, et al. A microRNA switch regulates the rise in hypothalamic GnRH production before puberty. *Nat Neurosci*. 2016;19(6):835-44.
27. Ahmed K, LaPierre MP, Gasser E, Denzler R, Yang Y, Rulicke T, et al. Loss of microRNA-7a2 induces hypogonadotropic hypogonadism and infertility. *The Journal of clinical investigation*. 2017;127(3):1061-74.
28. Parent AS, Franssen D, Fudvoye J, Gerard A, Bourguignon JP. Developmental variations in environmental influences including endocrine disruptors on pubertal timing and neuroendocrine control: Revision of human observations and mechanistic insight from rodents. *Frontiers in neuroendocrinology*. 2015;38:12-36.
29. Sedlmeyer IL, Palmert MR. Delayed puberty: analysis of a large case series from an academic center. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2002;87(4):1613-20.
30. Abitbol L, Zborovski S, Palmert MR. Evaluation of delayed puberty: what diagnostic tests should be performed in the seemingly otherwise well adolescent? *Archives of disease in childhood*. 2016;101(8):767-71.
31. Lawaetz JG, Hagen CP, Mieritz MG, Blomberg Jensen M, Petersen JH, Juul A. Evaluation of 451 Danish boys with delayed puberty: diagnostic use of a new puberty nomogram and effects of oral testosterone therapy. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2015;100(4):1376-85.
32. Varimo T, Miettinen PJ, Kansakoski J, Raivio T, Hero M. Congenital hypogonadotropic hypogonadism, functional hypogonadotropism or constitutional delay of growth and puberty? An analysis of a large patient series from a single tertiary center. *Hum Reprod*. 2017;32(1):147-53.
33. Zhu J, Chan YM. Adult Consequences of Self-Limited Delayed Puberty. *Pediatrics*. 2017.
34. Sedlmeyer IL. Pedigree Analysis of Constitutional Delay of Growth and Maturation: Determination of Familial Aggregation and Inheritance Patterns. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2002;87(12):5581-6.
35. Sun Y, Bak B, Schoenmakers N, van Trotsenburg AS, Oostdijk W, Voshol P, et al. Loss-of-function mutations in IGSF1 cause an X-linked syndrome of central hypothyroidism and testicular enlargement. *Nature genetics*. 2012;44(12):1375-81.
36. Joustra SD, Wehkalampi K, Oostdijk W, Biermasz NR, Howard S, Silander TL, et al. IGSF1 variants in boys with familial delayed puberty. *Eur J Pediatr*. 2015;174(5):687-92.
37. Howard SR, Guasti L, Ruiz-Babot G, Mancini A, David A, Storr HL, et al. IGSF10 mutations dysregulate gonadotropin-releasing hormone neuronal migration resulting in delayed puberty. *EMBO Mol Med*. 2016.
38. Raivio T, Falardeau J, Dwyer A, Quinton R, Hayes FJ, Hughes VA, et al. Reversal of idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *N Engl J Med*. 2007;357(9):863-73.
39. Pitteloud N, Quinton R, Pearce S, Raivio T, Acierno J, Dwyer A, et al. Digenic mutations account for variable phenotypes in idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *The Journal of clinical investigation*. 2007;117(2):457-63.
40. Sidhoum VF, Chan YM, Lippincott MF, Balasubramanian R, Quinton R, Plummer L, et al. Reversal and relapse of hypogonadotropic hypogonadism: resilience and fragility of the reproductive neuroendocrine system. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2014;99(3):861-70.
41. Kelberman D, Rizzoti K, Lovell-Badge R, Robinson IC, Dattani MT. Genetic regulation of pituitary gland development in human and mouse. *Endocrine reviews*. 2009;30(7):790-829.
42. Parks JS, Brown MR, Hurley DL, Phelps CJ, Wajnrajch MP. Heritable disorders of pituitary development. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1999;84(12):4362-70.
43. Achermann JC, Gu WX, Kotlar TJ, Meeks JJ, Sabacan LP, Seminara SB, et al. Mutational analysis of DAX1 in patients with hypogonadotropic hypogonadism or pubertal delay. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1999;84(12):4497-500.
44. Wolf NI, Vanderver A, van Spaendonck RM, Schiffmann R, Brais B, Bugiani M, et al. Clinical spectrum of 4H leukodystrophy caused by POLR3A and POLR3B mutations. *Neurology*. 2014;83(21):1898-905.

45. Margolin DH, Kousi M, Chan YM, Lim ET, Schmahmann JD, Hadjivassiliou M, et al. Ataxia, dementia, and hypogonadotropism caused by disordered ubiquitination. *N Engl J Med*. 2013;368(21):1992-2003.
46. Topaloglu AK, Lomniczi A, Kretzschmar D, Disen GA, Kotan LD, McArdle CA, et al. Loss-of-function mutations in PNPLA6 encoding neuropathy target esterase underlie pubertal failure and neurological deficits in Gordon Holmes syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2014;99(10):E2067-75.
47. Tata B, Huijbregts L, Jacquier S, Csaba Z, Gennin E, Meyer V, et al. Haploinsufficiency of DmXL2, encoding a synaptic protein, causes infertility associated with a loss of GnRH neurons in mouse. *PLoS Biol*. 2014;12(9):e1001952.
48. Aligianis IA, Johnson CA, Gissen P, Chen D, Hampshire D, Hoffmann K, et al. Mutations of the catalytic subunit of RAB3GAP cause Warburg Micro syndrome. *Nature genetics*. 2005;37(3):221-3.
49. Bem D, Yoshimura S, Nunes-Bastos R, Bond FC, Kurian MA, Rahman F, et al. Loss-of-function mutations in RAB18 cause Warburg micro syndrome. *American journal of human genetics*. 2011;88(4):499-507.
50. Chevrier L, Guimiot F, de Roux N. GnRH receptor mutations in isolated gonadotropic deficiency. *Molecular and cellular endocrinology*. 2011;346(1-2):21-8.
51. Lin L, Conway GS, Hill NR, Dattani MT, Hindmarsh PC, Achermann JC. A homozygous R262Q mutation in the gonadotropin-releasing hormone receptor presenting as constitutional delay of growth and puberty with subsequent borderline oligospermia. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2006;91(12):5117-21.
52. Vaaralahti K, Wehkalampi K, Tommiska J, Laitinen EM, Dunkel L, Raivio T. The role of gene defects underlying isolated hypogonadotropic hypogonadism in patients with constitutional delay of growth and puberty. *Fertility and sterility*. 2011;95(8):2756-8.
53. Pugliese-Pires PN, Fortin JP, Arthur T, Latronico AC, Mendonca BB, Villares SM, et al. Novel inactivating mutations in the GH secretagogue receptor gene in patients with constitutional delay of growth and puberty. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2011;165(2):233-41.
54. Themmen APN, Huhtaniemi IT. Mutations of gonadotropins and gonadotropin receptors: elucidating the physiology and pathophysiology of pituitary-gonadal function. *Endocrine reviews*. 2000;21(5):551-83.
55. Layman LC, Lee EJ, Peak DB, Namnoum AB, Vu KV, van Lingen BL, et al. Delayed puberty and hypogonadism caused by mutations in the follicle-stimulating hormone beta-subunit gene. *N Engl J Med*. 1997;337(9):607-11.
56. Tornberg J, Sykiotis GP, Keefe K, Plummer L, Hoang X, Hall JE, et al. Heparan sulfate 6-O-sulfotransferase 1, a gene involved in extracellular sugar modifications, is mutated in patients with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108(28):11524-9.
57. Pitteloud N, Meysing A, Quinton R, Acierno JS, Jr., Dwyer AA, Plummer L, et al. Mutations in fibroblast growth factor receptor 1 cause Kallmann syndrome with a wide spectrum of reproductive phenotypes. *Molecular and cellular endocrinology*. 2006;254-255:60-9.
58. Xu C, Messina A, Somm E, Miraoui H, Kinnunen T, Acierno J, Jr., et al. KLB, encoding beta-Klotho, is mutated in patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism. *EMBO Mol Med*. 2017.
59. Zhu J, Choa RE, Guo MH, Plummer L, Buck C, Palmert MR, et al. A Shared Genetic Basis for Self-Limited Delayed Puberty and Idiopathic Hypogonadotropic Hypogonadism. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2015;jc20151080.
60. Ong KK, Elks CE, Li S, Zhao JH, Luan J, Andersen LB, et al. Genetic variation in LIN28B is associated with the timing of puberty. *Nature genetics*. 2009;41(6):729-33.
61. Perry JR, Day F, Elks CE, Sulem P, Thompson DJ, Ferreira T, et al. Parent-of-origin-specific allelic associations among 106 genomic loci for age at menarche. *Nature*. 2014;514(7520):92-7.
62. Elks CE, Perry JR, Sulem P, Chasman DI, Franceschini N, He C, et al. Thirty new loci for age at menarche identified by a meta-analysis of genome-wide association studies. *Nature genetics*. 2010;42(12):1077-85.
63. Perry JR, Stolk L, Franceschini N, Lunetta KL, Zhai G, McArdle PF, et al. Meta-analysis of ge-

- nome-wide association data identifies two loci influencing age at menarche. *Nature genetics*. 2009;41(6):648-50.
64. Tommiska J, Wehkalampi K, Vaaralahti K, Laitinen EM, Raivio T, Dunkel L. LIN28B in constitutional delay of growth and puberty. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2010;95(6):3063-6.
65. Silveira-Neto AP, Leal LF, Emerman AB, Henderson KD, Piskounova E, Henderson BE, et al. Absence of functional LIN28B mutations in a large cohort of patients with idiopathic central precocious puberty. *Hormone research in paediatrics*. 2012;78(3):144-50.
66. Day FR, Thompson DJ, Helgason H, Chasman DI, Finucane H, Sulem P, et al. Genomic analyses identify hundreds of variants associated with age at menarche and support a role for puberty timing in cancer risk. *Nature genetics*. 2017;49(6):834-41.
67. Abreu AP, Dauber A, Macedo DB, Noel SD, Brito VN, Gill JC, et al. Central precocious puberty caused by mutations in the imprinted gene MKRN3. *N Engl J Med*. 2013;368(26):2467-75.
68. Dauber A, Cunha-Silva M, Macedo DB, Brito VN, Abreu AP, Roberts SA, et al. Paternally Inherited DLK1 Deletion Associated With Familial Central Precocious Puberty. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2017;102(5):1557-67.
69. Silveira LG, Noel SD, Silveira-Neto AP, Abreu AP, Brito VN, Santos MG, et al. Mutations of the KISS1 gene in disorders of puberty. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2010;95(5):2276-80.
70. 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(7):709-15.
71. Fukami M, Suzuki E, Izumi Y, Torii T, Narumi S, Igarashi M, et al. Paradoxical gain-of-function mutant of the G-protein-coupled receptor PROKR2 promotes early puberty. *J Cell Mol Med*. 2017.
72. Saenger P, Wikland KA, Conway GS, Davenport M, Gravholt CH, Hintz R, et al. Recommendations for the diagnosis and management of Turner syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001;86(7):3061-9.
73. Improda N, Rezzuto M, Alfano S, Parenti G, Vajro P, Pignata C, et al. Precocious puberty in Turner Syndrome: report of a case and review of the literature. *Ital J Pediatr*. 2012;38:54.
74. Cox L, Liu JH. Primary ovarian insufficiency: an update. *International journal of women's health*. 2014;6:235-43.
75. Aittomaki K, Lucena JL, Pakarinen P, Sistonen P, Tapanainen J, Gromoll J, et al. Mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene causes hereditary hypergonadotropic ovarian failure. *Cell*. 1995;82(6):959-68.
76. Juul A, Aksglaede L, Bay K, Grigor KM, Skakkebaek NE. Klinefelter syndrome: the forgotten syndrome: basic and clinical questions posed to an international group of scientists. *Acta paediatrica*. 2011;100(6):791-2.
77. Ong KK, Ahmed ML, Dunger DB. Lessons from large population studies on timing and tempo of puberty (secular trends and relation to body size): the European trend. *Molecular and cellular endocrinology*. 2006;254-255:8-12.
78. Biro FM, Khoury P, Morrison JA. Influence of obesity on timing of puberty. *International journal of andrology*. 2006;29(1):272-7; discussion 86-90.
79. Frisch RE, McArthur JW. Menstrual cycles: fatness as a determinant of minimum weight for height necessary for their maintenance or onset. *Science*. 1974;185(4155):949-51.
80. Elias CF. Leptin action in pubertal development: recent advances and unanswered questions. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2012;23(1):9-15.
81. Barash IA, Cheung CC, Weigle DS, Ren H, Kabisigting EB, Kuijper JL, et al. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. *Endocrinology*. 1996;137(7):3144-7.
82. Gill MS, Hall CM, Tillmann V, Clayton PE. Constitutional delay in growth and puberty (CDGP) is associated with hypoleptinaemia. *Clinical endocrinology*. 1999;50(6):721-6.
83. Banerjee I, Trueman JA, Hall CM, Price DA, Patel L, Whatmore AJ, et al. Phenotypic variation in constitutional delay of growth and puberty: relationship to specific leptin and leptin receptor gene polymorphisms. *European journal of endocrinology*. 2006;155(1):121-6.
84. Pomerants T, Tillmann V, Karelson K, Jurimae J, Jurimae T. Ghrelin response to acute aerobic exercise in boys at different stages of puberty. *Horm Metab Res*. 2006;38(11):752-7.

85. Persson I, Ahlsson F, Ewald U, Tuvemo T, Qingyuan M, von Rosen D, et al. Influence of perinatal factors on the onset of puberty in boys and girls: implications for interpretation of link with risk of long term diseases. *American journal of epidemiology*. 1999;150(7):747-55.
86. Wehkalampi K, Hovi P, Dunkel L, Strang-Karlsson S, Jarvenpaa AL, Eriksson JG, et al. Advanced pubertal growth spurt in subjects born pre-term: the Helsinki study of very low birth weight adults. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2011;96(2):525-33.
87. Dunger DB, Ahmed ML, Ong KK. Early and late weight gain and the timing of puberty. *Molecular and cellular endocrinology*. 2006;254-255:140-5.
88. Boehm U, Bouloux PM, Dattani MT, de Roux N, Dode C, Dunkel L, et al. Expert consensus document: European Consensus Statement on congenital hypogonadotropic hypogonadism: pathogenesis, diagnosis and treatment. *Nature reviews Endocrinology*. 2015;11(9):547-64.
89. Palmert MR, Dunkel L. Clinical practice. Delayed puberty. *N Engl J Med*. 2012;366(5):443-53.

Determinaciones bioquímicas basales y tras estímulo de utilidad en el diagnóstico de patología puberal

Basal and stimulated hormonal levels in the diagnosis of pubertal disorders

José Ignacio Labarta Aizpún, Marta López Úbeda, Antonio de Arriba Muñoz, Marta Ferrer Lozano

Unidad de Endocrinología. Servicio de Pediatría. Hospital Infantil Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Resumen

La pubertad precoz se define en base a unos criterios clínicos y su diagnóstico se basa en el estudio del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal y en la demostración de unos niveles elevados de esteroides sexuales. El test de GnRH es la prueba de oro para el diagnóstico de la pubertad precoz central y existe controversia en definir el punto de corte de LH que indique activación del gonadostato y la progresión de la pubertad. Los nuevos ensayos para la determinación de las gonadotropinas han permitido el uso de la LH basal como método de detección de la pubertad precoz central. La pubertad retrasada puede deberse a diversas etiologías. Las gonadotropinas basales, sobre todo la FSH, son útiles en el diagnóstico del hipogonadismo por fallo gonadal. El uso del test de GnRH en el diagnóstico de la pubertad retrasada está limitado por el solapamiento de valores entre el retraso constitucional y el hipogonadismo hipogonadotropo idiopático y por ello es muy importante el seguimiento clínico.

Palabras clave: *Pubertad precoz. Pubertad retrasada. Gonadotropinas*

Abstract

Precocious puberty is clinically defined and the diagnosis is based on the demonstration of increased sex steroids levels and on the study of the hypothalamus-pituitary-gonadal axis. GnRH test is the gold standard for the diagnosis of central precocious puberty but there is controversy regarding the peak LH level that defines activation of the gonadostate and progression of puberty. Delayed puberty is caused by different etiologies. Basal gonadotropin levels, specially FSH, are useful in the diagnosis of hypogonadism due to gonadal failure. The use of GnRH test in the diagnosis of delayed puberty is limited by the overlap between constitutional delayed of puberty and idiopathic hypogonadotropic hypogonadism and therefore clinical follow up is mandatory.

Key Words: *Precocious puberty. Delayed puberty. Gonadotropins*

La pubertad es una fase biológica compleja del desarrollo humano que lleva a la adquisición de la madurez sexual completa y supone el periodo de transición que va desde la infancia hasta la edad adulta. En dicha fase se desarrollan los caracteres sexuales secundarios, se obtiene la maduración sexual completa alcanzándose la fertilidad y capacidad reproductiva. Además, se producen cambios en la composición corporal, un rápido incremento de la estatura hasta alcanzar la talla adulta y se originan importantes cambios en la esfera psicoemocional.

Correspondencia:

José Ignacio Labarta Aizpún, Unidad de Endocrinología.
Servicio de Pediatría, Hospital Infantil Universitario Miguel Servet, Zaragoza
E-mail: jilabarta@salud.aragon.es

Desde hace varias décadas, se ha propuesto que el fenómeno final clave que pone en marcha la pubertad es el aumento en la secreción y la pulsatilidad de hormona hipotalámica liberadora de gonadotropinas (GnRH) por parte de las neuronas hipotalámicas y secundariamente de las gonadotropinas hipofisarias, LH y FSH, que van a ser las responsables de la estimulación de la producción de los esteroides gonadales que van a provocar el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios. Este proceso requiere un eje hipotálamo-hipofiso-gonadal intacto, tanto funcional como anatómicamente, y cualquier agente que interfiera sobre este eje puede determinar un daño temporal o permanente en la secuencia puberal y/o en la función reproductiva ⁽¹⁻⁴⁾.

Pubertad precoz

La aparición de los caracteres sexuales secundarios se considera normal cuando se desarrolla entre los 8 y los 13 años en la mujer y entre los 9 y 14 en el varón. La mejor manera de conocer la secuencia puberal es mediante la realización de estudios longitudinales que permitan saber con exactitud la secuencia y cronología de este periodo del desarrollo humano ⁽⁵⁾. Se define pubertad precoz como aquella que se inicia a una edad inferior a – 2,5 desviaciones estándar de la media poblacional y el límite internacionalmente aceptado es de 8 años para la mujer y de 9 años para el varón. Desde un punto de vista fisiopatológico, se conocen 3 formas de pubertad precoz ⁽⁶⁾.

- Pubertad Precoz Central (PPC). Algunos autores la denominan también pubertad precoz verdadera. Es aquella dependiente de la activación completa del eje hipotálamo hipofiso gonadal, es decir, dependiente de gonadotropinas. Existe una activación precoz de la liberación de hormona liberadora de gonadotropinas y, por ende, de FSH y LH. Es la causa más frecuente de pubertad precoz y es siempre isosexual.
- Pubertad Precoz Periférica (PPP). Es aquella que resulta de la exposición a esteroides sexuales, sean éstos de origen gonadal o no, sin objetivar elevación de gonadotropinas y por ello se considera independiente de la activación del eje hipotálamo-hipofiso-gonadal. Puede ser isosexual o no, y ser, entonces, virilizante o feminizante.
- Pubertad Precoz Mixta. Se produce cuando la maduración del eje hipotálamo hipofisario ocurre tras el estímulo de cualquier pubertad precoz de causa periférica, produciéndose secundariamente una pubertad precoz central.

Diagnóstico de pubertad precoz: utilidad de las determinaciones hormonales

Ante un paciente con sospecha de pubertad precoz (aparición de caracteres sexuales secundarios con aceleración de la velocidad de crecimiento y de la edad ósea), se dispone de una serie de pruebas complementarias que pueden ser de utilidad para el diagnóstico diferencial entre PPC y PPP así como de otras variantes de la normalidad como la telarquia precoz. La determinación de estradiol y gonadotropinas (FSH, LH), basales y tras estímulo con GnRH (100 µg/m² iv), son las herramientas primordiales para el diagnóstico de una PP. En la PPC se deberá demostrar la existencia de una activación del gonadostato que determina una elevación de los esteroides gonadales y en la PPP habrá una inhibición o inactivación del gonadostato a pesar de la producción de esteroides.

El *test de GnRH* es la prueba oro aunque existe controversia sobre el punto de corte de LH a partir del cual se considera diagnóstico de pubertad precoz y no existe un consenso en la comunidad científica al respecto. Así, distintos trabajos han mostrado unos niveles pico de LH para considerar PPC que oscilan entre 3,3 y 15 UI/L. Esta variabilidad entre los distintos estudios puede estar mediada por factores raciales, diferencias en el tamaño muestral, así como por el método utilizado (Tabla 1). Cambios en el punto de corte del pico de LH condicionan cambios en la sensibilidad y especificidad de la prueba. A partir de los 2 años de edad, se considera la existencia de una activación central de la pubertad cuando la respuesta de LH en la prueba de estimulación con GnRH de la LH alcanza un pico mayor a 7 UI/L y es superior al pico de FSH; según los estudios oscilaría el punto de corte entre 5 UI/L y 8 UI/L en función del método utilizado para determinar los niveles de LH. En la primera infancia, los niveles de gonadotropinas y de esteroides gonadales (testosterona y estradiol) deben ser siempre interpretados con cautela debido a que pueden estar elevados por la minipubertad fisiológica y por ello para niños menores de 2 años el punto de corte se establece en 10 UI/L ⁽⁷⁻⁹⁾.

Si no se dispone de GnRH, algunos autores proponen el uso de acetato de leuprolide (análogo de GnRH); se administra de forma subcutánea a la dosis de 20 mcg/kg con un máximo de 500 mcg y se realiza la determinación de LH a las 2 horas de manera que un pico superior a 9,7 UI/L sería indicativo de activación central del gonadostato ⁽¹⁰⁾. Para otros autores y bajo este mismo protocolo, la determinación de LH 30 minutos tras la administración del análogo del GnRH es útil para identificar una PPC y niveles por encima de 9,2 UI/L sería indicativos de PPC mientras que niveles inferiores a 4,9 UI/L indicarían un eje prepuberal; niveles intermedios serían

Tabla 1. Niveles de corte de LH basal y tras estimulación para el diagnóstico de la PPC^(8,9).

Autor	Método	LH Basal	GnRH	LH pico
Oerter KE, 1990	RIA	ND	100 µg iv	15 (M) 25 (V)
Cavallo A, 1995	IRMA	ND	100 µg iv	15
Neely EK, 1995	ICMA	0,15	100 µg iv	5,0
Eckert KL, 1996	ICMA	ND	100 µg iv	8,0
Brito VN, 1999	IFMA	0,6	100 µg iv	6,9 (m) 9,6 (v)
Brito VN, 2004	IFMA	0,6	AL 3,75 mg	10,0
Houk CP, 2009	ICMA IFMA	0,83 1,05	ND ND	ND ND
Pasternak, 2012	ICMA	0,1	100 µg iv	4,9
Sathasivam, 2010	ICMA	0,3	AL 20 µg/kg sc	5,0
Resende E, 2007	ICMA	0,2	100 µg iv	4,1 (v) 3,3 (M)
	IFMA	0,6	100 µg iv	3,3 (V) 4,2 (M)
Lee P, 2013	ECLIA	0,1	100 µg iv	5,0 (M)
Freire AV, 2013	IFMA	ND	TR sc	7,0
	ECLIA	ND	TR sc	8,0
Bizarri C, 2014	ICMA	>0,2	100 µg iv	5,0

ICMA: inmunoquimioluminiscencia. IFMA: inmunofluorescencia. ECLIA: electroquimioluminiscencia. SC: subcutáneo. IRMA: inmunoradiométrico IV: intravenoso. M: mujeres. V: varones. ND: no disponible. AL: acetato de leuprolide. TR: triptorelina (0,1 mg/m2/máximo 0,1 mg). LH: UI/L.

indicativos de una mínima activación del gonadotato y en ellos sería necesario realizar un seguimiento clínico⁽¹¹⁾.

En los últimos años y gracias al avance en las técnicas que cuantifican las *gonadotropinas basales* con ensayos de tercera generación con anticuerpos monoclonales tales como inmunofluorescencia (IFMA), inmunoquimioluminiscencia (ICMA) y electroquimioluminiscencia (ECLIA), ha surgido el debate sobre la utilidad de la LH basal como método de cribado de PPC sin necesidad de realizar un test de estímulo de GnRH que es más molesto para el paciente y más costoso económicamente⁽¹²⁻¹⁶⁾. Estos métodos novedosos disponen de mayor sensibilidad para la detección de valores muy bajos y son capaces de diferenciar cambios tan sutiles como 0,1 UI/L. A pesar de ello sigue siendo muy difícil diferenciar niños/as prepuberales de aquellos que ya han iniciado la pubertad por el gran solapa-

miento de los valores, especialmente con los niños/as en estadio Tanner II. Es necesario conocer la metodología que se usa en la determinación de las gonadotropinas ya que se han demostrado niveles basales y pico de LH diferentes en varones y mujeres para diferenciar un estadio puberal de una fase prepuberal en función del ensayo⁽¹⁷⁾. La sensibilidad de los niveles basales de LH para el diagnóstico de PPC varía entre el 60% y el 100% en función del nivel de corte y del método utilizado. Niveles basales de LH por encima de 0,6 UI/L (IFMA) o de 0,3 UI/L (ICMA, ECLIA) son considerados puberales, si bien unos valores basales en rango prepuberal no excluyen diagnóstico de una PPC^(8,17). Harrington *et al* proponen un punto de corte de LH basal $\geq 0,3$ UI/L para el diagnóstico de pubertad precoz central y únicamente realizar un test de estímulo con GnRH en aquellas pacientes con LH $\leq 0,2$ UI/L que a los 3-6 meses de observación muestren una progresión clínica de la pubertad⁽¹⁴⁾. Houk *et al* han propuesto la determinación de LH basal y proponen un punto de corte de 1 UI/L, de modo que solamente los pacientes que tuvieran un valor inferior a 1 UI/L serían sometidos a un test de GnRH⁽¹⁵⁾. En este mismo estudio se presentan los resultados con un ensayo diferente y se establece un punto de corte de 0,83 UI/L. En base a este estudio únicamente se propone realizar un test de GnRH en aquellas pacientes donde existe desacuerdo entre los criterios clínicos de desarrollo puberal y los valores basales de LH. El nivel basal de FSH no es de utilidad para establecer un diagnóstico de posible PPC, ni tampoco la ratio LH/FSH, pero cuando sus niveles están suprimidos sugieren altamente una PPP.

Se han realizado estudios con el intento de correlacionar los hallazgos clínicos y analíticos para analizar si el comportamiento de las PPC orgánicas difiere de las formas idiopáticas. Aunque existan diferencias analíticas, es imposible descartar una lesión del SNC en un paciente determinado sin realizar una neuroimagen⁽¹⁸⁾. Igualmente, no es posible diferenciar una telarquia precoz idiopática de una PPC en niñas por debajo de 3 años en base únicamente a los niveles de LH, basales o tras un test de estimulación, y es necesario correlacionar los hallazgos clínicos, analíticos y ecográficos. Posiblemente la combinación de una determinación de LH basal ($> 0,2$ UI/L) y la medida del fondo uterino (> 34 mm) sean los parámetros que mejor identifiquen aquellas niñas a riesgo de desarrollar una PPC y en las que habría que realizar un test de estimulación con GnRH, pero siempre asegurando un control clínico que es obligatorio en estas pacientes⁽¹⁹⁾.

Los valores de testosterona son de enorme utilidad en el diagnóstico de PP en el varón, pero no permiten diferenciar entre una PPC y una PPP y para ello se deberá estudiar el eje hipotálamo hipofisario; ni-

veles por encima de 0,5 ng/ml son indicativos de pubertad. Por el contrario, la cuantificación de *17-b-estradiol* en niñas presenta escasa sensibilidad, ya que valores normales no descartan una PP. Por el contrario, niveles muy elevados de estradiol se encuentran en caso de tumores ováricos y suprarrenales productores de estrógenos y en casos de quistes ováricos.

Los *andrógenos suprarrenales* (DHEA-s, androstendiona y 17-OH-progesterona) son útiles en el estudio de PPP de origen suprarrenal; una elevación de 17 OH progesterona basal por encima de 2 ng/ml indica la necesidad de realizar un test de ACTH para descartar una forma no clásica de déficit de 21 hidroxilasa y una elevación de DHEA-s superior a 700 mcg/dl en un niño en edad prepuberal es altamente sugestivo de tumor suprarrenal.

La determinación de *b-HCG* (fracción *b* de la gonadotropina coriónica humana) es de utilidad como marcador tumoral en casos de PPP secundario a un tumor germinal productor ^(20,21).

Pubertad retrasada

Se entiende por comienzo tardío de la pubertad la ausencia de cualquier signo de pubertad a una edad superior a 2,5 SDS de la media. Desde el punto de vista práctico, se considera un retraso puberal cuando el varón no ha alcanzado un volumen testicular de 4 ml a los 14 años y la mujer no ha iniciado el desarrollo mamario a los 13 años de edad. La pubertad no progresiva o detenida se caracteriza por la ausencia de progresión de los caracteres sexuales desde un estadio puberal intermedio durante al menos dos años. Se considera que existe un desarrollo incompleto de la pubertad cuando transcurren más de 5 años entre los primeros signos de pubertad y el desarrollo genital completo en el varón y la menarquia en la mujer. Amenorrea primaria indica la ausencia de la menarquia a los 16 años de edad y se entiende por amenorrea secundaria a la ausencia de menstruaciones tras la existencia de sangrado uterino previo durante 6 meses o tras un período de tiempo igual a tres ciclos previos ⁽²²⁾.

La pubertad retrasada se puede clasificar en tres grandes grupos: el primer grupo corresponde al retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo, también conocido como retraso constitucional de la pubertad (RCP). Es una variante de la normalidad consistente en un trastorno temporal de la secreción de gonadotropinas y esteroides sexuales por retraso madurativo. El segundo grupo es el del hipogonadismo producido por insuficiencia hipotálamo-hipofisaria con secreción deficiente de gonadotropinas, por lo que se denomina hipogonadismo hipogonadotropo, que puede ser funcional o per-

manente. El tercer grupo lo constituye el hipogonadismo producido por insuficiencia gonadal primaria, en el que las gonadotropinas muestran concentraciones elevadas en plasma debido a la pérdida del retrocontrol negativo, denominándose por dicho motivo hipogonadismo hipergonadotropo ^(23,24).

Diagnóstico de pubertad retrasada: utilidad de las determinaciones hormonales

Antes de realizar un estudio hormonal debe realizarse una historia clínica dirigida y se ha de investigar sobre pubertad retrasada o anormal en padres y hermanos, edad de la menarquia materna, modo de madurar paterno, tallas, existencia de hipogonadismos, infertilidad o anosmia en otros miembros de la familia y consanguinidad. El examen físico incluye la exploración física general, genital y auxológica, además del estudio de la maduración ósea. Inicialmente son recomendables ciertos exámenes básicos como una bioquímica general hormonas tiroideas, prolactina y estudio del eje hipotálamo-hipofisario. En muchas ocasiones es muy difícil realizar un diagnóstico diferencial de todas las causas de retraso puberal con criterios clínicos por lo que es necesario recurrir a las pruebas complementarias ^(25,26).

El nivel sérico de *gonadotropinas* teóricamente define el hipogonadismo hipogonadotropo e hipergonadotropo al estar disminuido y aumentado, respectivamente. No obstante, el valor de su determinación depende de la edad o período en que se realice y de la intensidad del trastorno. Así, en el lactante existe un período inicial tras el nacimiento en que el eje hipotálamo-hipofiso-gonadal está activado, período conocido como minipubertad. En la adolescencia, las determinaciones basales de gonadotropinas tienen un valor limitado a la vista de las fluctuaciones que reducen el valor discriminatorio entre prepuberales y puberales. En la actualidad existen técnicas ultrasensibles que permiten una medida exacta de LH y FSH séricas. En el hipogonadismo hipogonadotropo se observan valores muy bajos o indetectables en las formas severas, mientras que dichos valores pueden ser normales en las formas parciales ^(26,27).

En el sexo masculino, un valor sérico de *testosterona basal* es detectable en los niños normales durante la lactancia y la pubertad, pero los valores son bajos durante la época prepuberal. Cuando el volumen testicular alcanza 8-10 ml, ese nivel aumenta por encima del intervalo prepuberal y su determinación es esencial para la investigación del hipogonadismo al final de la adolescencia y en la edad adulta. En el hipogonadismo la testosterona total está baja y a menudo el nivel de testosterona libre está

más descendido debido al aumento de la proteína transportadora de las hormonas sexuales (SHBG). En las formas parciales de hipogonadismo los niveles de testosterona pueden estar en el límite inferior de la normalidad ⁽²⁸⁾.

En el sexo femenino, el nivel plasmático de *17- β -estradiol* en niñas normales sufre un incremento rápido desde el nacimiento hasta el quinto día de vida, relacionado con un origen materno o placentario. Los niveles bajos que se encuentran con posterioridad indican ausencia de actividad gonadal hasta la pubertad, por lo que su determinación en edad prepuberal tiene escasa utilidad diagnóstica. A partir de la pubertad, el nivel sérico basal está descendido en ambos tipos de hipogonadismos.

La realización del *test de GnRH* permite evaluar la integridad del eje y valorar su respuesta, que es dosis dependiente y variable con la edad de manera que en niños normales con una edad ósea superior a 10-11 años se demuestra un incremento significativo de la respuesta. En condiciones normales, un bolo iv de 100 μ g permite obtener una respuesta de LH multiplicada por 3-6 veces con respecto al nivel sérico basal, y de 1,5 a 2 veces el de la FSH. Proporciona información sobre la cantidad de gonadotropinas disponibles en los depósitos de liberación inmediata y de la capacidad de las células gonadotropas para sintetizar nuevas moléculas de gonadotropinas, de manera que los pacientes con RCP presentan una respuesta más intensa que los pacientes con hipogonadismo hipogonadotropo (HH). La respuesta al test de GnRH en el hipogonadismo hipogonadotropo es nula pero en función del nivel de afectación (hipotalámico o hipofisario) y de la severidad del mismo, se observan respuestas variables. La variabilidad en la respuesta observada ha llevado a que en la práctica diaria muchas veces esta prueba no permita diferenciar estas dos situaciones. Como grupo, los adolescentes con HH tienen unos niveles de respuesta inferior al RCP, pero hasta el 30% de los pacientes pueden tener respuestas muy semejantes. En el diagnóstico del hipogonadismo hipergonadotropo no suele ser necesario puesto que están elevados los niveles basales de gonadotropinas, especialmente los de FSH ^(26,29).

El *test de hCG*, restringido al sexo masculino, mide la respuesta de testosterona por estimulación de las células de Leydig y, de esta forma, valora la función testicular. Se asume que los pacientes con RCP muestran una respuesta positiva y ausente o débil en los HH. Se conocen diferentes protocolos en cuanto a dosis y tiempos de extracción de testosterona lo que hace que los estudios sean difícilmente comparables⁽³⁰⁾. El test de GnRH cuando se combina con un test de hCG (medición de testosterona a los 3 y 19 días), ofrece una mayor significación diagnóstica con una sensibilidad y especificidad

del 100%, describiéndose en el hipogonadismo hipogonadotropo una respuesta significativamente inferior al compararla con individuos con retraso puberal constitucional ⁽³¹⁾.

Muchas veces es difícil realizar el diagnóstico diferencial entre el retraso puberal constitucional y el hipogonadismo hipogonadotropo idiopático (HHI) y existen situaciones en las que ni las determinaciones basales de LH y FSH, ni el test de LHRH, ni las determinaciones de testosterona basal o tras hCG aclaran el problema. Se han utilizado modificaciones del test de GnRH convencional administrando GnRH en infusión iv durante 4 horas o mediante la administración de bolos repetidos para diferenciar la ausencia de respuesta, propia del HHI, de una respuesta positiva en el RPC ⁽²⁶⁾. También se han utilizado diferentes *análogos de GnRH* como agente estimulador de la liberación de gonadotropinas como naftarelina, triptorelina o leuprolide con diferentes resultados; la falta de validación de los resultados obtenidos en series pequeñas ha limitado mucho su aplicación. La secreción pulsátil de gonadotropinas durante el sueño puede ser de utilidad. Los niños con retraso puberal muestran una secreción pulsátil de LH cuando alcanzan una edad ósea de 11 años, no así en los HHI, si bien con métodos ultrasensibles se han detectado pulsos de LH de baja amplitud en los HHI. También se ha postulado que una simple medida del nivel sérico basal de FSH puede ayudar a diferenciar un RPC del HHI ya que cuando dicho nivel es inferior a 1,2 UI/L en los varones es altamente predictivo de HHI ⁽³²⁾. En relación a los niveles de LH un estudio indica que unos niveles superiores a 0,65 UI/L excluiría el diagnóstico de HHI, si bien formas parciales de hipogonadismos no podrían ser identificados con este punto de corte.

En el varón, las determinaciones de *inhibina B* y de *hormona antimülleriana* son útiles para determinar la presencia y función de las células de Sertoli durante la infancia y la época prepuberal. En la actualidad, pueden servir de ayuda al estar disminuidas en los hipogonadismos y no así en niños con retraso puberal simple constitucional. La determinación basal de inhibina B puede ayudar a realizar el diagnóstico diferencial de modo que unos niveles inferiores a 35 pg/ml en varones con un volumen testicular igual o inferior a 3 ml orienta hacia un hipogonadismo hipogonadotropo. La determinación de la hormona antimülleriana ha mostrado tener menor sensibilidad y especificidad ^(33,34).

A pesar de todas las pruebas comentadas, no existe en la actualidad ningún procedimiento totalmente eficaz que permita distinguir con certeza estas dos situaciones y en ocasiones ello sólo se podrá realizar mediante la observación clínica y analítica a lo largo del tiempo ^(27,35,36).

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no presentan ningún conflicto de intereses en relación con esta presentación.

Referencias Bibliográficas

1. Cartault A, Edouard T, Pienkowski C, Tauber M. Normal puberty. *Rev Prat* 2008; 58: 1311-6.
2. Parent AS, Teilmann G, Juul A, Skakkebaek NE, Toppari J, Bourguignon JP. The timing of normal puberty and the age limits of sexual precocity: variations around the World, secular trends, and changes alter migration. *Endocr Rev* 2003; 24: 668-93.
3. Grumbach MM. The neuroendocrinology of human puberty revisited. *Horm Res* 2002; 57 (Suppl 2):2-14.
4. Buck Louis GM, Gray LE Jr, Marcus M, Ojeda SR, Pescovitz OH, Witchel SF, et al. Environmental factors and puberty timing: expert panel research needs. *Pediatrics* 2008; 121(Suppl 3): S192-207.
5. Ferrández Longás A, Baguer L, Labarta JI, Labena C, Mayayo E, Puga B, et al. Longitudinal study of normal spanish children from birth to adulthood: anthropometric, puberty, radiological and intellectual data. *Ped Endocrinol Rev* 2005; 2 (suppl 4): 425-462.
6. Carel JC, Lahlou N, Roger M, Chaussain JL. Precocious puberty and statural growth. *Human Reprod Update* 2004; 10: 135- 47.
7. Carvallo A, Richards GE, Busey S, Michaels SE. A simplified gonadotropin-releasing hormone test for precocious puberty. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1995; 42:641-6.
8. Brito VN, Spinola-Castro AM, Kochi C, Kopacek C, Alves da Silva PC, Guerra-Junior G. Central precocious puberty: revisiting the diagnosis and therapeutic management. *Arch Endocrinol Metab* 2016; 60 (2): 163-72.
9. Brito VN, Latronico AC, Arnhold IJP, Mendonca BB. Update on the etiology, diagnosis and therapeutic management of sexual precocity. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2008; 52: 18-30.
10. Brito VN, Latronico AC, Arnhold IJ, Mendonca BB. A single luteinizing hormone determination 2 hours after depot leuprolide is useful for therapy monitoring of gonadotropin-dependent precocious puberty in girls. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 4338-42.
11. Houk CP, Kunselman AR, Lee PA. The diagnostic value of a brief GnRH analogue stimulation test in girls with central precocious puberty: a single 30-minute post-stimulation LH sample is adequate. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2008; 21: 1113-1118.
12. Neely EK, Hintz RL, Wilson DM, Lee PA, Gautier T, Argente J, et al. Normal ranges for immunochemiluminometric gonadotropin assays. *J Pediatr* 1995; 127:40-6.
13. Neely EK, Wilson DM, Lee PA, Stene M, Hintz R. Spontaneous serum gonadotropin concentrations in the evaluation of precocious puberty. *J Pediatr* 1995; 127: 47-52.
14. Harrington J, Palmert M, Hamilton J. Use of local data to enhance uptake of published recommendations: an example from the diagnostic evaluation of precocious puberty. *Arch Dis Child* 2014; 99:15-20.
15. Houk CP, Kunselman AR, Lee PA. Adequacy of a single unstimulated luteinizing hormone levels to diagnose central precocious puberty in girls. *Pediatrics*. 2009; 123:1059-63.
16. Brito VN, Batista MC, Borges MF, Latronico AC, Kohek MBF, et al. Diagnostic value of fluorometric assays in the evaluation of precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3539-3544.
17. 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; 92:1424-9.
18. Chemaitilly W, Trivin C, Adan L, Gall V, Sainte-Rose C, Brauner R. Central precocious puberty: clinical and laboratory features. *Clin Endocrinol* 2001; 54: 289-94.
19. Bizarri C, Spadoni GL, Bottaro G, Montanari G, Giannone G, Cappa M, Cianfarani S. The response to gonadotropin releasing hormone (GnRH) simulation test does not predict the progression to true precocious puberty in girls with onset of premature thelarche in the first three years of life. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99: 433-9.
20. Soriano-Guillén L, Argente J. Pubertad precoz central: aspectos epidemiológicos, etiológicos

- y diagnóstico-terapéuticos. *An Pediatr (Barc)* 2011; 74 (5): 336.e1-336.e13.
21. Soriano-Guillén L, Argente J. Pubertad precoz periférica: fundamentos clínicos y diagnóstico-terapéuticos. *An Pediatr (Barc)* 2012; 76 (4): 229.e1-229.e10.
 22. Mayayo E, Labarta JI, Sinués B, Ferrández A. Pubertad retrasada. Hipogonadismos. En: *Tra-tado de Endocrinología Pediátrica*. Pombo M, (4ª ed.) Madrid: McGraw-Hill Interamericana, 2009; 524-550.
 23. Layman LC. Hypogonadotropic hypogonadism. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2007; 36: 283-296.
 24. Traggiai C, Stanhope R. Delayed puberty. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2002; 16: 139-151.
 25. Wehkalampi K, Widén E, Laine T et al. Pattern of inheritance of constitutional delay of growth and puberty in families of adolescent girls and boys referred to specialist pediatric care. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93 (3): 723-28.
 26. Harrington J, Palmert MR. Distinguishing constitutional delay of growth and puberty from isolated hypogonadotropic hypogonadism: critical appraisal of available tests. Harrington J, Palmert MR. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: 3056-67.
 27. Albitbol L, Zborovski S, Palmert MR. Evaluation of delayed puberty: what diagnostic tests should be performed in the seemingly otherwise well adolescent ?. *Arch Dis Child* 2016; 101: 767-771.
 28. Martin MM, Martin AL. Constitutional delayed puberty in males and hypogonadotropic hypogonadism: a reliable and cost-effective approach to differential diagnosis. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2005; 18 (9): 909-916.
 29. Sukumar SP, Bhansali A, Schdeva N, Ahuja CK, Gorski U, et al. Diagnostic utility of testosterone priming prior to dynamic tests to differentiate constitutional delay in puberty from isolated hypogonadotropic hypogonadism. *Clin Endocrinol* 2017; 86: 717-724.
 30. Degros V, Cortet-Rudelli C, Soudan B, Dewailly D. The human chorionic gonadotropin test is more powerful than the gonadotropin-releasing hormone agonist test to discriminate male isolated hypogonadotropic hypogonadism from constitutional delayed puberty. *Eur J Endocrinol* 2003; 149 (1): 23-29.
 31. Segal TY, Mehta A, Anazodo A, Hindmarsh PC, Dattani MT. Role of GnRH and hCG stimulation test in differentiating patients with hypogonadotropic hypogonadism from those with constitutional delay of growth and puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94(3): 780-785.
 32. Grinspon RP, Ropelato G, Gottlieb S, Keselman A, Martínez A, et al. Basal follicle-stimulating hormone and peak gonadotropin levels after gonadotropin-releasing hormone infusion show high diagnostic accuracy in boys with suspicion of hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: 2811-2818.
 33. Coutant R, Biette-Demeneix E, Bouvattier C. Baseline inhibin B and anti-Müllerian hormone measurements for diagnosis of hypogonadotropic hypogonadism in boys with delayed puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95(12): 5225-32.
 34. Binder G, Schweizer R, Blumenstock G, Braun R. Inhibin B plus LH vs GnRH agonist test for distinguishing constitutional delay of growth and puberty from isolated hypogonadotropic hypogonadism in boys. *Clin Endocrinol* 2015; 82: 100-105.
 35. Boehm U, Bouloux PM, Dattani MT, De Roux N, Dodé C, et al. European consensus statement on congenital hypogonadotropic hypogonadism-pathogenesis, diagnosis and treatment. *Nat Rev Endocrinol* 2015; 11: 547-564.
 36. Wei C, Crowne EC. Recent advances in the understanding and management of delayed puberty. *Arch Dis Child* 2016; 101: 481-488.

Pruebas de imagen en el diagnóstico de la patología puberal

Imaging tests for the diagnosis of pubertal pathology

Lidia Castro-Feijóo¹, Paloma Cabanas¹, Jesús Barreiro¹, Manuel Pombo²

¹Unidad de Endocrinología Pediátrica y Crecimiento. Departamento de Pediatría. Hospital Clínico Universitario. Universidad de Santiago de Compostela. IDIS. Santiago de Compostela.

²Departamento de Pediatría. Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela.

Resumen

El radiodiagnóstico tiene un papel destacado en el estudio de la patología endocrinológica en Pediatría. Los estudios de imagen se incluyen entre las pruebas complementarias necesarias para el diagnóstico de diferentes entidades clínicas, entre ellas los trastornos de la pubertad. El esquema diagnóstico para el estudio de la patología puberal destaca a la radiografía de la mano y muñeca entre las pruebas complementarias iniciales que deberían realizarse ya que permite evaluar la edad ósea, elemento relevante en el manejo clínico y terapéutico de estos pacientes. En pasos posteriores del procedimiento diagnóstico otras pruebas de imagen como la ecografía y la resonancia magnética son útiles para precisar el diagnóstico etiológico. Asimismo, en los casos que requieren tratamiento son fundamentales para el seguimiento clínico. En esta revisión breve se abordarán algunos aspectos relacionados con las características e importancia que tienen los estudios de imagen en la valoración de la patología puberal.

Palabras clave: Pubertad, radiología, estudios de imagen, edad ósea, ecografía, resonancia magnética, diagnóstico, pubertad precoz, pubertad retrasada, patología puberal

Abstract

The radiodiagnosis plays an important role in the study of endocrinological pathology in Pediatrics. The imaging studies are included among the complementary tests necessary for the diagnosis of different clinical entities, including puberty disorders. The diagnostic scheme in the study of pubertal pathology shows the X-ray of the hand and wrist between the initial complementary tests that should be performed. It allows the evaluation of the bone age and it is also an important element of analysis for the clinical and therapeutic management. Subsequent steps of the diagnostic procedure include other imaging tests such as ultrasound and magnetic resonance that are essential to determine the etiological diagnosis. In addition all these studies are fundamental for the clinical follow-up, particularly if the patient require treatment. In this short review we will discuss some aspects related to the characteristics and importance of imaging studies in the evaluation of pubertal pathology.

Correspondencia:

Lidia Castro-Feijóo
Unidad de Endocrinología Pediátrica y Crecimiento
Departamento de Pediatría, Hospital Clínico Universitario
Universidad de Santiago de Compostela
IDIS, Santiago de Compostela
E-mail: lidia.castro.feijoo@sergas.es
E-mail: lidia.castro.feijoo@usc.es

Key Words: Puberty, radiology, imaging tests, bone age, ultrasonography, magnetic resonance, diagnosis, precocious puberty, delayed puberty, pubertal pathology

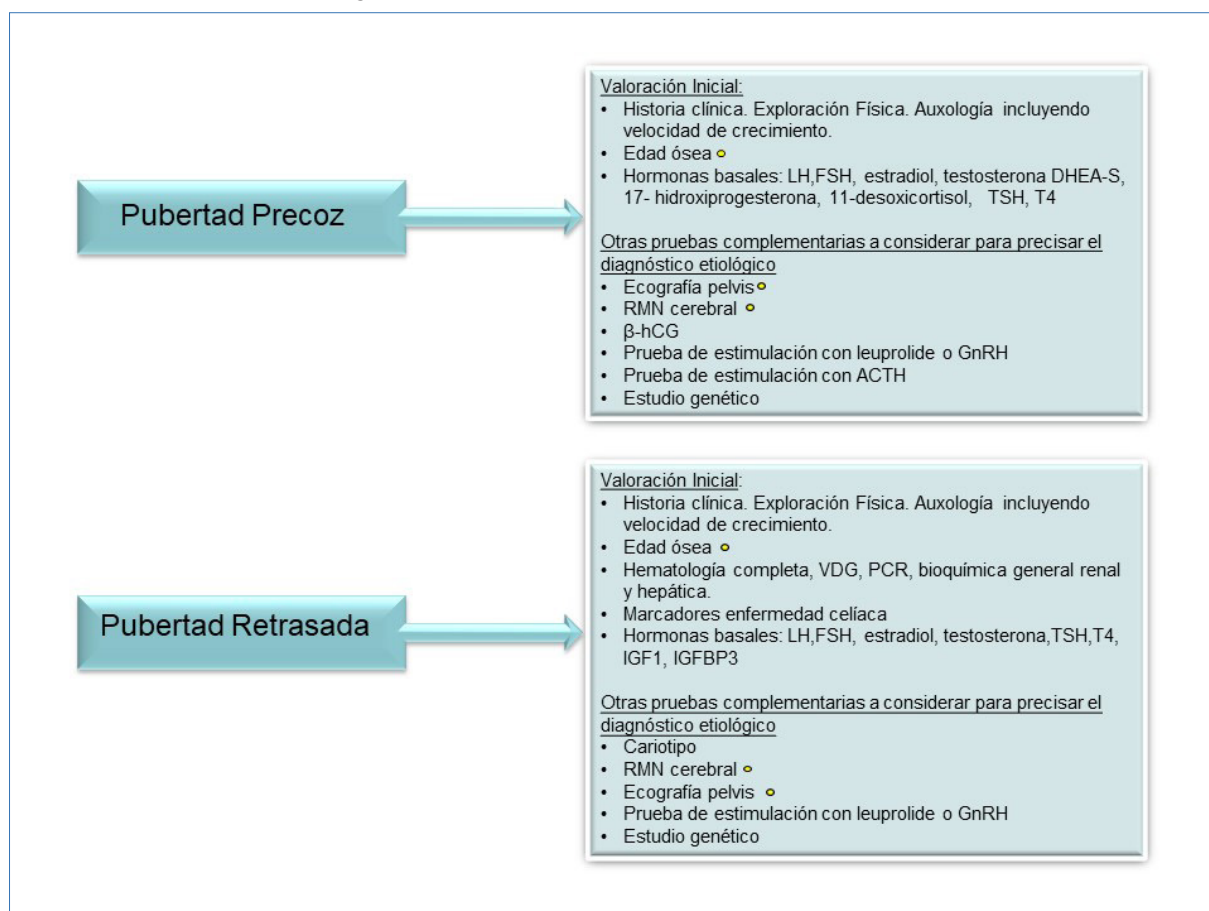
INTRODUCCIÓN

El radiodiagnóstico tiene un papel destacado en el estudio de la patología del sistema endocrino en Pediatría. Las pruebas de imagen se incluyen entre los estudios complementarios de uso habitual en la práctica clínica en diferentes estrategias y algoritmos diagnósticos como es el caso del estudio de la patología puberal. En la figura 1 se presenta un esquema general para la evaluación de la pubertad precoz y pubertad retrasada en el que se puede apreciar la importancia que tienen, a pesar de los grandes avances tecnológicos de los últimos años, la realización de una historia clínica completa y una exploración física exhaustiva que incluya un adecuado análisis auxológico, como paso previo a la solicitud de pruebas complementarias de laboratorio y radiológicas, con el objetivo de realizar una aproximación diagnóstica precisa. Entre las pruebas las radiológicas destaca como parte de los estudios iniciales la radiografía de la mano y muñeca, fundamental para la evaluación de la edad ósea y luego, ya en etapas posteriores del procedimiento diagnóstico se incluyen la ecografía y la resonancia magnética (RM), importantes para precisar la etiología del cuadro clínico. Además, las pruebas de

imagen no solo aportan información relevante de cara al diagnóstico, sino que son necesarias en el seguimiento del paciente, especialmente en aquellos que requieren tratamiento ⁽¹⁻⁵⁾.

El estudio radiográfico de uso habitual por su accesibilidad y moderada complejidad para su interpretación es la radiografía de mano y muñeca. Con ella se obtiene una idea aproximada de la maduración ósea, un elemento básico en el análisis de la evolución del crecimiento y la pubertad y, por ende, una herramienta esencial entre los estudios complementarios necesarios en el esquema diagnóstico de la patología puberal e incluso, como ya se comentó, en el seguimiento terapéutico. Otro estudio de imagen de uso frecuente para el diagnóstico y control de la patología puberal es la ecografía de abdomen y pelvis, especialmente el ultrasonido pélvico que permite valorar las características de los órganos sexuales femeninos y, por lo tanto, es un estudio útil para el diagnóstico de la PPC (Pubertad Precoz Central) y más aún para el de la PPP (Pubertad Precoz Periférica). También aporta información en el estudio de la pubertad retrasada y, en el varón, permite evaluar las características y tamaño testicular. Además, dada a la asociación obser-

Figura 1. Estudio y pruebas complementarias de uso habitual en el estudio de la pubertad precoz y pubertad retrasada. Pruebas de imagen 🟡.



vada entre lesiones del sistema nervioso central (especialmente de la región hipotálamo hipofisaria) y los trastornos de la pubertad, los estudios de imagen que permitan su visualización como la RM o incluso la TAC (tomografía axial computarizada) son parte del esquema diagnóstico que debería considerarse en el análisis de la patología puberal. La TAC, por ejemplo, puede revelar calcificaciones que comúnmente se observan en los craneofaringiomas, una causa de disfunción hipofisaria que causa PPC. No obstante, el estudio más apropiado para visualizar lesiones del sistema nervioso central (SNC) es la RM; que tal como se señala en la figura 1 está incluida entre las pruebas complementarias requeridas en la estrategia diagnóstica de los trastornos de la pubertad, especialmente en los casos de pubertad precoz ⁽¹⁻⁶⁾.

En esta revisión se abordarán algunos aspectos relacionados con las características e importancia que tienen los estudios de imagen en la valoración de la patología puberal.

1. EDAD ÓSEA. LA RADIOGRAFÍA DE LA MANO Y MUÑECA

La valoración de la madurez esquelética es un procedimiento de rutina en todos los departamentos de radiología pediátrica. Los pediatras y, en especial, los endocrinólogos pediatras consideran que la evaluación de la edad ósea (EO) mediante una radiografía de mano y muñeca es un método útil en la práctica clínica que refleja la edad biológica del niño; con la importancia que esto conlleva en el análisis del desarrollo normal y el estudio de la patología relacionada con el crecimiento y la pubertad ^(6, 7).

De hecho, muchos parámetros que se utilizan en el análisis del crecimiento como la velocidad de crecimiento, la masa mineral ósea y la menarquia, en las niñas, correlacionan mucho mejor con la edad ósea que con la edad cronológica (EC). Una edad ósea retrasada se observa en el retraso constitucional de crecimiento, en la deficiencia de hormona de crecimiento, en el hipotiroidismo, en la desnutrición y en las enfermedades crónicas en general. Sin embargo, la EO está adelantada con respecto a la cronológica cuando el paciente ha tenido una elevación prolongada y sostenida de los niveles de esteroides sexuales, como ocurre en la hiperplasia suprarrenal y en la pubertad precoz. Aunque también se puede observar un cierto adelanto madurativo óseo en niños de talla alta, en el sobrepeso y obesidad o en la adrenarquia prematura. También cuadros clínicos sindrómicos que cursan con hipercrecimiento como el síndrome de Sotos, el síndrome de Beckwith-Wiedemann y el síndrome de Marshall-Smith se asocian con una EO significativamente avanzada ^(6, 7).

1.1 Aspectos técnicos y metodológicos

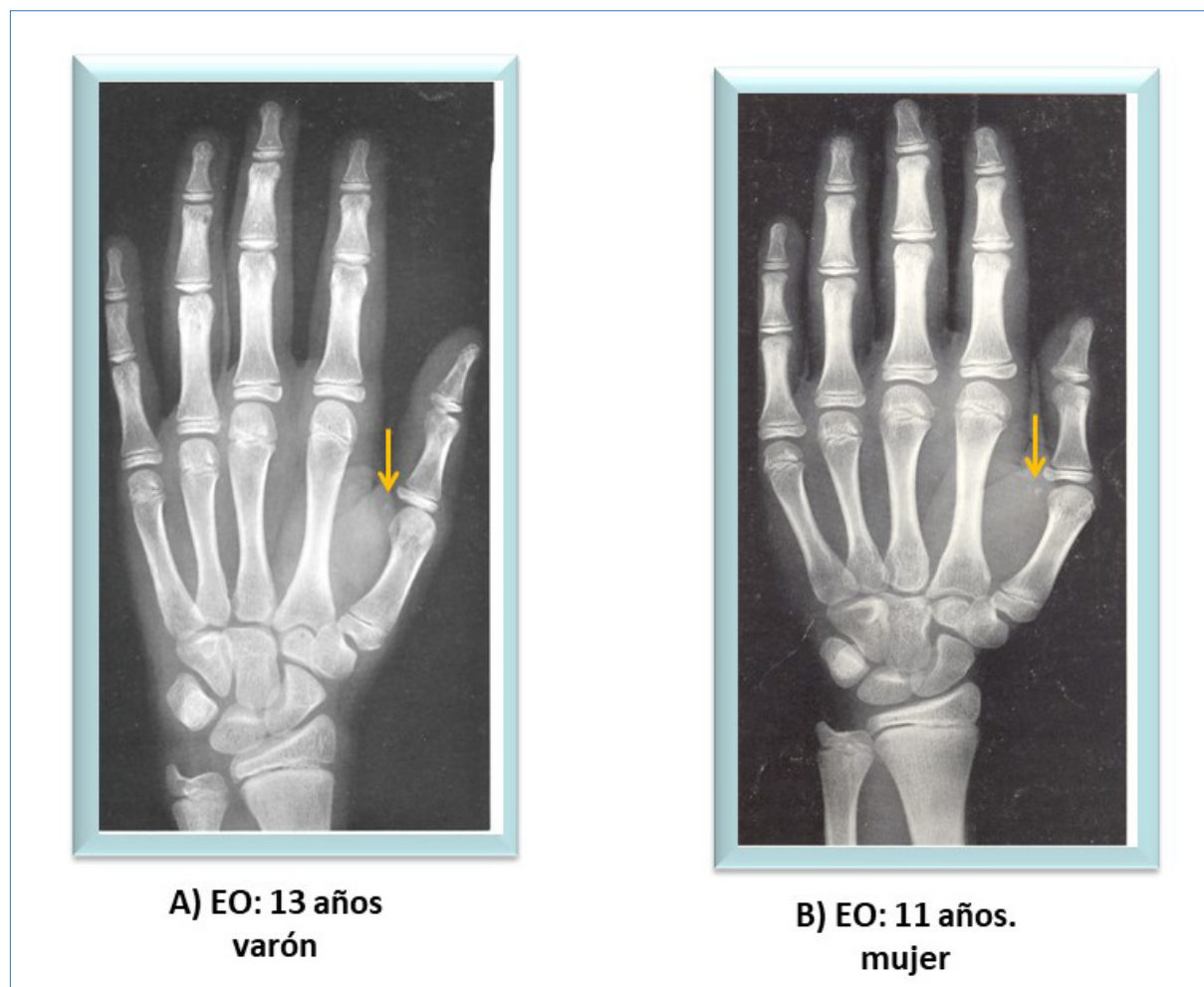
La dosis de radiación efectiva recibida por un niño para obtener una radiografía para una evaluación de la EO es menor de 0,00012 mSv, lo que equivaldría a menos de 20 minutos de radiación natural o a 2 minutos de la recibida en un vuelo transatlántico. No obstante, también hay que recordar que en la ecuación para el análisis de la dosis de radiación recibida hay que tomar en cuenta la susceptibilidad del tejido en el área expuesta, ya que algunos lo son más que otros y se expresa con el factor de ponderación del tejido, que para piel es 0,02, para la superficie del hueso es 0,05 y para la médula ósea es 0,5. La combinación de dosis y área (alrededor del 3% del área de superficie corporal) da como resultado la dosis efectiva de una radiografía mano-muñeca. Un cálculo conservador resulta en un riesgo de mortalidad a 40 años de $5,1 \times 10^{-8}$ para una radiografía de mano en un adolescente tomando como base una dosis de 0,00015 mSv. Por lo tanto, ya sea en la actividad clínica o de investigación, el riesgo es mínimo ⁽⁷⁾.

A partir de 1.898 se han publicado diferentes estudios dirigidos a la lectura e interpretación de la maduración ósea, aunque la mayoría de ellos se caracterizan por comparar la radiografía de mano y muñeca del paciente con diferentes estándares, valorando y promediando la madurez de varios huesos, seguida de la designación de la EO. Su determinación se efectúa mediante la comparación, bien sea por el radiólogo o por el médico solicitante, de la forma y el tamaño de los huesos de la muñeca y mano con una serie radiográfica estandarizada y evolutiva representativa del desarrollo esquelético. De ellos, los de uso más frecuente son el atlas radiográfico de Greulich y Pyle (G&P) y otro que utiliza un método de puntuación diseñado por Tanner y Whitehouse (TW) ^(2, 7-13).

El atlas de Greulich y Pyle ⁽⁹⁾ presenta dos series de radiografías de la mano y muñeca izquierda, de varones y niñas respectivamente. De tal manera que este método permite comparar la radiografía del paciente con un catálogo de imágenes radiográficas de referencia, cada una de las cuales corresponde a una edad ósea y sexo. En la figura 2 se observan dos radiografías extraídas de este atlas, ambas similares en sus características óseas, correspondientes a una niña de 11 años y a un varón de 13 años.

Aunque para su manejo es necesaria cierto grado de experiencia para tener la capacidad de reconocer en la radiografía los indicadores de madurez, la ventaja indudable del método de G&P es su sencillez e incluso rapidez para la interpretación en la propia consulta clínica. Los autores recomiendan que primero se valore globalmente la radiografía y

Figura 2. Imágenes de radiografías de mano y muñeca izquierda del atlas de Greulich y Pyle.



A) Edad ósea de 13 años en un varón. B) Edad ósea de 11 años en una niña. Observe la similitud entre ambas imágenes que corresponden con el inicio de la pubertad en varones (A) y en mujeres (B). La flecha en ambas imágenes señala el hueso sesamoideo que suele visualizarse a partir de esas edades óseas coincidiendo con el inicio de la pubertad.

que después se analicen los indicadores de madurez de 30 huesos de la muñeca y mano (epífisis del cúbito y del radio, huesos del carpo y epífisis de los metacarpianos, así como las falanges de los cinco dedos). El promedio de la puntuación obtenida sería la EO. La realidad, sin embargo, es que la mayoría de los usuarios inspeccionan solo algunos de estos o visualizan y comparan la radiografía del paciente con las del atlas de manera global. En el caso de un observador experimentado que haga el análisis de manera general en el 95% de los casos la EO estimada estaría alrededor de ± 6 meses la edad real ^(7,9).

El método de Tanner y Whitehouse publicado en 1962 (TW1) y modificado en 1975 (TW2) tiene también adeptos, especialmente entre los endocrinólogos pediatras. Se basa en la aplicación de puntajes a los indicadores de madurez observables en los huesos individuales de la mano y la muñeca. Existen tres modalidades de valoración: TW2 que anali-

za y puntúa 20 huesos (epífisis del cúbito y el radio, huesos del carpo excepto el pisiforme, metacarpianos y falanges del 1, 3 y 5 dedos), TW-carpo que valora únicamente los huesos del carpo y el método TW-RUS que evalúa y puntúa 13 huesos (epífisis del cúbito y del radio, 1, 3, y 5 metacarpiano y falanges proximales, medias y distales del pulgar, 3 y 5 dedos). La EO se calcula a partir de la suma de los puntajes. De todas ellas la modalidad TW2-RUS es la más utilizada, aunque su aplicación consume mucho más tiempo comparado con la forma en que la mayoría de los médicos y radiólogos usan el atlas de G&P ^(10, 12-15). En 2001 se publicó el método Tanner-Whitehouse 3 (TW3) que actualiza la relación entre el puntaje total de madurez ósea y la tendencia secular ^(11, 12-17).

Estos métodos y otros menos utilizados requieren de un entrenamiento por parte del lector para minimizar los errores intra e interobservador. Por ejemplo, un estudio reciente encontró un error estándar

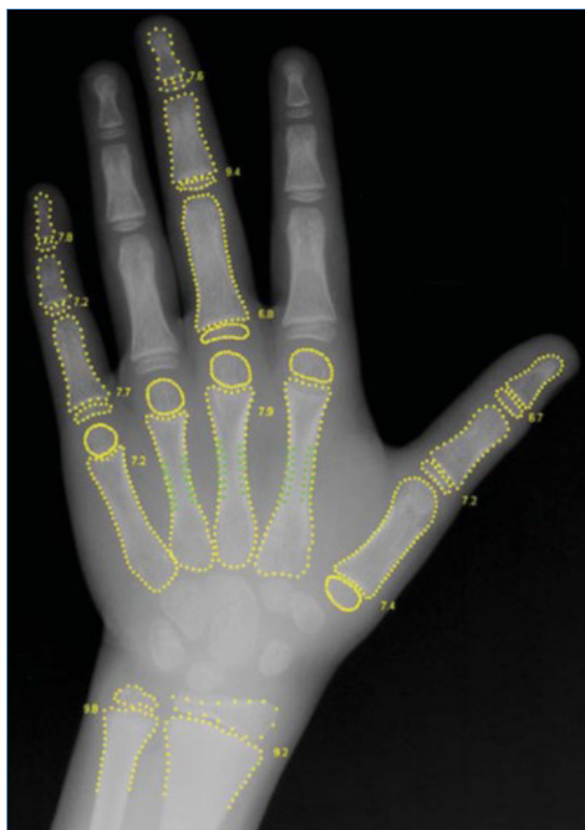
de 0,55 años entre las lecturas de un grupo de 5 endocrinólogos pediatras y un error estándar de 0,61 años entre 7 radiólogos ⁽⁷⁾.

De hecho, los avances en computación e informática, además de los progresos que en general se están dando en el campo de las imágenes en medicina, hace que la evaluación de la EO a través de métodos automatizados resulte francamente atractiva. CASAS (*computer-assisted skeletal systems*), Bone Expert, CASMAS (*computer-aided skeletal maturity system*) son algunos de estos métodos en estudio. En Dinamarca se ha desarrollado un software conocido como BoneXpert (figura 3) que en la actualidad es el único sistema para uso clínico en Europa. Este método reconstruye, a partir de las radiografías de la mano, los bordes de 15 huesos automáticamente y luego calcula las edades óseas "intrínsecas" de los 13 huesos (radio, cúbito y 11 huesos cortos). Finalmente, transforma las edades óseas "intrínsecas" en la edad ósea de Greulich y Pyle o Tanner-Whitehouse. El método de reconstrucción ósea rechaza automáticamente imágenes

con una morfología ósea anormal o una calidad de imagen muy baja. La ventaja obvia del uso de este *software* basado en la interpretación de la edad ósea de manera automatizada es la ausencia de variación entre lecturas. Esto podría significar una mejora significativa de la calidad de la valoración de la EO sobretodo en estudios multicéntricos. No obstante, tiene el inconveniente de que si hay una importante variación entre la EO asignada a alguno de los huesos se dificulta la lectura final. Asimismo, si bien se obtiene la EO, el radiólogo o el endocrinólogo pediatra deberían valorar visualmente la radiografía ya que esta, como es conocido, pueda aportar información relevante para el diagnóstico del paciente aparte de la EO. Por ejemplo, un 4to metacarpiano corto puede sugerir un síndrome de Turner ^(7, 18).

Otras técnicas de imagen como la RM y la ecografía también se están investigando como herramienta diagnóstica en la valoración de la MO. Terada y col (19, 20) han desarrollado un escáner de mano pediátrico para la evaluación de la edad ósea, aunque tiene como inconveniente el requerir que el paciente esté inmóvil durante al menos 2 min 44 s, con la dificultad que esto supone en población pediátrica. También la ecografía se presenta como una interesante alternativa. Hay varios trabajos que intentan validar la evaluación de la EO por este método, BonAge[®] (Sunlight Medical Ltd, Tel Aviv, Israel) por ejemplo es un instrumento que utiliza un apoyabrazos entre dos transductores para apoyar la mano y la muñeca del paciente y las ondas ultrasónicas pasan a través del radio distal y de la epífisis cubital. Luego, su *software* utiliza un algoritmo basado en mediciones de la velocidad del sonido y la distancia entre los dos transductores para el cálculo de la EO. Existe disparidad en los resultados obtenidos, ya que hay estudios que concluyen que existe una correlación elevada de los resultados obtenidos con este método al compararlos con G&P y TW, mientras que otros autores concluyen que BonAge[®] no es un método válido para determinar la EO. También SonicBone (Rishon LeZion, Israel) ha desarrollado recientemente otro dispositivo portátil, BAUST[™], que utiliza un método cuantitativo de tecnología ultrasonográfica y señalan que la EO obtenida es comparable a la lectura de los métodos tradicionales. De todas maneras, la validez de estos sistemas requerirá la validación con estudios en cohortes mayores y en diferentes poblaciones y grupos étnicos ^(17, 21-24).

Figura 3. Imagen representativa del método automatizado BoneXpert.



Radiografía de la mano izquierda que muestra la detección automática de los contornos del radio distal, el cúbito, los metacarpianos y falanges. A cada uno de los huesos que evalúa el sistema se le asigna un valor y el cálculo de la media resultante se informa como edad ósea.

1.2. El papel de la EO en el estudio de los trastornos de la pubertad

La pubertad es un proceso complejo que involucra la activación y maduración del eje hipotálamico-hipofisario-gonadal. El período puberal se caracteri-

za por el desarrollo de las características sexuales secundarias, la adquisición de la capacidad reproductiva y la aceleración del crecimiento que culmina al alcanzar la talla adulta^(4, 6).

La evaluación clínica de la maduración puberal se vale de los estadios de Tanner que evalúan la evolución de la mama y vello púbico en la niña y en la evaluación de genitales y vello púbico en el varón. El crecimiento puberal, que representa del 15% al 20% de la estatura adulta es indudablemente una de las características más importantes entre los notables cambios físicos que ocurren durante la pubertad. En las niñas el aumento de talla total es de aproximadamente 25 cm y el pico de velocidad de crecimiento ocurre aproximadamente a la edad de 12 años y es de 9 cm/año. Los niños, sin embargo, en promedio, alcanzan una velocidad de crecimiento máxima de 10,3 cm/año y este pico de crecimiento suele ocurrir 2 años más tarde que las niñas, y la ganancia aproximada de talla en el periodo puberal es de alrededor de 28 cm. Al final de la pubertad el crecimiento se desacelera hasta que cesa debido a la fusión epifisaria⁽⁴⁾.

La pubertad normal sigue una secuencia de hechos físicos y fisiológicos predecible. Sin embargo, la edad de inicio de la pubertad difiere en los niños sanos: la edad promedio en las niñas es de 9,5 a 10 años y en los niños de 11,5 a 12 años, pero puede variar de 8 a 13 años en niñas y de 9 a 14 años en niños. También, la progresión puberal y el tiempo y magnitud del pico de velocidad de crecimiento puede variar considerablemente. Por tanto, la edad cronológica no suele reflejar el estado de madurez puberal, por lo que se hace necesario encontrar parámetros que permitan evaluar la edad biológica. En este sentido, como ya se comentó, la maduración esquelética puede servir como un indicador de la edad biológica⁽⁴⁾.

La maduración ósea está regulada por complejas interacciones hormonales que involucran al eje somatotrofo, tiroideo, suprarrenal y gonadal. A lo largo de la infancia y la pubertad, los huesos cambian de tamaño y forma por lo que a medida que el niño crece, los huesos carpianos y tarsales de las manos y los pies y sus respectivas epífisis se calcifican y aparecen en las radiografías. Durante la pubertad la maduración ósea se acelera y las porciones cartilaginosas de las epífisis terminan fusionándose. Esta fusión se produce habitualmente a la edad ósea de 15 en las niñas y 17 en los niños. Estos cambios en la placa de crecimiento a menudo ocurren paralelamente a los cambios evolutivos observados durante el desarrollo puberal. De tal manera que condiciones fisiológicas o patológicas asociadas con retraso en la maduración esquelética también tienden a retrasar el inicio de la pubertad, mientras que los que aceleran la maduración ósea

tienden a acelerar el inicio y evolución de la pubertad⁽⁴⁾.

La exposición a niveles elevados de estradiol, testosterona o andrógenos suprarrenales, como ocurre en la pubertad precoz, la hiperplasia suprarrenal congénita, y el hipertiroidismo persistente condicionan una aceleración importante de la MO. Mientras que este avance de la EO es menor en la adrenarquia precoz, y aún menos marcado en el paciente con sobrepeso, en talla la alta constitucional o incluso en algunas displasias óseas. Por el contrario, condiciones que retrasan la maduración del esqueleto, como las enfermedades crónicas y la malnutrición, el hipotiroidismo, el retraso constitucional del crecimiento y la deficiencia de la hormona del crecimiento presentan un retraso tanto en EO como en el inicio de la pubertad⁽⁴⁾.

De ahí el papel fundamental que tiene el estudio de la EO (figura 1) en la evaluación y manejo del niño con trastornos del crecimiento y la pubertad. Contribuyendo en el análisis diagnóstico del niño con pubertad normal, variantes normales de la pubertad, pubertad precoz y pubertad retrasada. La EO, asimismo, permite evaluar por diferentes métodos, aunque con limitaciones, la predicción de crecimiento. También es importante en la toma de decisiones terapéuticas y seguimiento de su eficacia^(4, 6-8).

Pubertad precoz y maduración ósea

La pubertad precoz (PP) se define como el inicio del desarrollo de las características sexuales secundarias antes de los 8 años de edad en las niñas y de los 9 años en los niños. Dependiendo de su etiología se clasifica en tres categorías: 1) pubertad precoz central (PPC) o dependiente de gonadotropinas, cuya causa en más del 80% de los pacientes se debe a una activación idiopática del eje gonadotrópico, y en el resto de los casos a anomalías o tumores del sistema nervioso (SNC). 2) pubertad precoz periférica o independiente de gonadotropinas, causada por secreción periférica de hormonas sexuales bien sea de origen gonadal o suprarrenal y también por producción de gonadotropina coriónica humana ectópica por un tumor de células germinales, o incluso puede ser de origen exógeno por consumo o aplicación de sustancias que contengan esteroides sexuales. 3) pubertad precoz incompleta, que consiste en el desarrollo aislado de la mama (telarquia prematura) o del vello púbico o axilar mediado por andrógenos producidos en las glándulas suprarrenales (adrenarquia precoz). El curso de la pubertad también varía y su espectro comprende desde formas lentamente progresivas hasta rápidamente progresivas. En las que progresan pausadamente el potencial de crecimiento puberal habitualmente se conserva y por tanto la talla

adulto no suele afectarse; mientras que la PP que progresa rápidamente se caracteriza por un rápido desarrollo de las características sexuales secundarias, menarquia temprana en las niñas, aceleración de la velocidad de crecimiento y una talla que suele ser elevada con respecto a lo que se esperaría por potencial genético en el momento del diagnóstico pero que finalmente acabará comprometiendo la talla adulta. La principal preocupación en la evaluación inicial en estos pacientes es identificar la etiología subyacente y excluir patología del SNC o gonadal. La preocupación secundaria es definir el ritmo de progresión puberal para poder seleccionar a aquellos pacientes que deberían recibir tratamiento⁽⁴⁾.

En el análisis clínico de los trastornos de la pubertad el estudio de la EO tiene un papel importante. En la PPC la exposición prematura a las hormonas sexuales acelera la tasa de maduración ósea de tal manera que la EO en el paciente con PPC está generalmente avanzada con respecto a su edad cronológica. De hecho, la evaluación de la EO en el momento del diagnóstico ayuda a diferenciar entre el paciente con PPC rápidamente progresiva y variantes lentas. El adelanto de la EO con respecto a la EC en las formas rápidamente progresivas es mayor de 2 SD, mientras que en las lentamente progresivas es solo de 1 a 2 SD. No obstante, el grado de avance de la EO no siempre puede servir como un marcador preciso del ritmo puberal. Por ejemplo, podría estar solo algo adelantada cuando el diagnóstico se realiza cerca del inicio de la pubertad y ya en etapas posteriores del desarrollo puberal si se podría encontrar un avance mayor con respecto a la EC. La predicción de talla final, si bien no es un método exacto y absolutamente fiable, continúa siendo una herramienta de análisis en el estudio del paciente con PPC e incluso un factor a valorar para la indicación de tratamiento. A pesar de ello es importante tomar en consideración que por ejemplo en series de pacientes históricas con PPC no tratados, la precisión de la predicción de talla no fue satisfactoria ya que se observó una sobreestimación de la talla final de entre 3,7 y 5,9 cm en niñas, mientras que, en los niños, si bien existe poca información disponible, la diferencia parece ser aún mayor. Esta inexactitud se debe a que los métodos más ampliamente utilizados para el cálculo del pronóstico de talla adulta que son el de Bayley-Pinneau y TW están basados en estudios realizados en muestras sin endocrinopatías subyacentes⁽⁴⁾. También la evaluación de la MO como se analiza en el artículo relacionado con el manejo terapéutico de la pubertad precoz tiene un papel destacado en la decisión de la indicación del tratamiento y evidentemente en el análisis y evolución de la eficacia terapéutica.

La PP incompleta bien sea la telarquia prematura o adrenarquia precoz, se consideran variantes de la

pubertad normal. En estos casos la EO se encuentra acorde a la EC o ligeramente avanzada y la velocidad de crecimiento no está acelerada. No obstante, en estos niños debe vigilarse su evolución ante la posibilidad de estar en periodos iniciales de una PP verdadera. La telarquia prematura se caracteriza por un desarrollo mamario aislado y ausencia de otros signos de pubertad, velocidad de crecimiento normal y EO normal o, como ya se comentó, con un leve adelanto en relación a la EC. La mayoría de los casos son idiopáticos y se presentan alrededor de los 2 años de edad, aunque puede ya observarse en la recién nacida, puede remitir espontáneamente o tener una progresión muy lenta. De un 14% a un 20 % pueden progresar a una PP isosexual verdadera. Estas pacientes deben seguir un control regular que incluya evaluación de los signos de pubertad, velocidad de crecimiento y maduración ósea⁽⁴⁾.

En relación a la adrenarquia prematura definida por la aparición de vello pubiano o axilar antes de los 8 años en niñas y 9 en varones, cuando se han excluido otras causas de adrenarquia como tumores productores de andrógenos o defectos de la esteroidogénesis, se observa que la EO está algo adelantada, aunque con una progresión lenta de su avance y de manera general no parece haber un compromiso de la talla final⁽⁴⁾.

Pubertad retrasada y maduración ósea

La pubertad retrasada se define como la ausencia de características sexuales secundarias (incremento del volumen testicular > 4 cm en niños y desarrollo de la mama en niñas) a una edad mayor de 2 a 2,5 DE que la media de la población. De manera general cuando se inicia la pubertad a la edad de 14 años en niños y 12-13 años en niñas. La pubertad retrasada es consecuencia de una secreción inadecuada de esteroides gonadales debida a trastornos del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal. Se suele clasificar en dos grupos: 1) fallo gonadal primario debido a diversas enfermedades gonadales, que se caracterizan por niveles elevados de gonadotropinas y bajos de hormonas sexuales. 2) hipogonadismo secundario debido a la disfunción hipotalámica, hipopituitarismo, o hiperprolactinemia, caracterizada por niveles bajos de hormonas sexuales y gonadotropinas. La alteración de la secreción y / o acción de la hormona hipotalámica liberadora de gonadotropina (GnRH) es la causa más frecuente de hipogonadismo secundario. Puede ser funcional, como ocurre en el retraso constitucional del crecimiento y la pubertad, deberse a enfermedades crónicas, ejercicio excesivo, desnutrición, estrés e incluso algunos medicamentos. También en entidades patológicas como el Síndrome de Kallmann, el hipogonadismo hipogonadotrópico (HH) aislado idiopático y en tumores que afecten el área

hipotálamo-hipofisaria; por ejemplo, craneofaringiomas ⁽⁴⁾.

El diagnóstico del retraso constitucional del crecimiento y la pubertad (RCCP) es esencialmente un diagnóstico de exclusión, estos niños son sanos, aunque presentan retraso en el inicio de pubertad, pero con progresión normal y el crecimiento durante la pubertad está ligeramente reducido. Aunque en general parece no comprometerse la talla final, hay discusión sobre ello. En niños con insuficiencia gonadal primaria o hipogonadismo permanente se observa que, durante la pubertad, la aceleración del crecimiento no ocurre y la fusión epifisaria se retrasa considerablemente y el paciente puede adquirir un hábito eunocoide. No obstante, en el síndrome de disgenesia gonadal el patrón de crecimiento que presentan no se atribuye a la falla gonadal primaria sino a defectos esqueléticos asociados como se observa en el síndrome de Turner. En pacientes con retraso constitucional del crecimiento y la pubertad o con hipogonadismo hipogonadotropo funcional el retraso del crecimiento y la EO retrasada se manifiesta antes de la edad esperada de inicio puberal y, debido a que la mayoría de estos trastornos tienen en común un defecto funcional en la secreción de GnRH y / o su acción, no hay ninguna prueba confiable que facilite el diagnóstico diferencial en el periodo prepuberal ⁽⁴⁾.

La información que aporta la EO en estos casos suele ser útil y debería realizarse de forma rutinaria en niños con retraso del crecimiento y / o pubertad. El inicio de la pubertad normalmente corresponde con un rango EO de 11 a 13 años en niños y de 9,5 a 11 años en niñas. Aunque el grado de retraso de la EO no permite clarificar el diagnóstico, su determinación podría ser útil en la evaluación inicial y diferencial entre RCCP y el HH aislado. Por otra parte, cuando la maduración ósea retrasada está asociada con una velocidad de crecimiento reducida se deberían investigar otros trastornos endocrinos como la deficiencia de GH, hipotiroidismo, y enfermedades sistémicas crónicas. Como se comentó en el apartado sobre la pubertad precoz la EO en el paciente que necesite recibir tratamiento resulta importante no solo para la decisión y momento de iniciar el tratamiento, sino para el seguimiento del paciente ⁽⁴⁾.

1.3. Otras utilidades de la radiografía de mano para el diagnóstico

La radiografía de mano-muñeca ofrece además de la posibilidad de valorar la edad biológica o maduración ósea, información que ayuda al clínico para el diagnóstico de entidades que pueden estar asociadas o no a una MO anormal. Por ejemplo, en la deficiencia de SHOX se puede observar la deformidad de madelung o en el síndrome de Turner el acorta-

miento del cuarto metacarpiano, ambos signos radiológicos característicos de dichas entidades. Y en el pseudohipoparatiroidismo acortamiento de los metacarpianos cuarto y quinto. También en otras enfermedades endocrinas se visualizan hallazgos radiográficos típicos en la radiografía de mano y muñeca: mineralización anormal en el raquitismo, retraso en el desarrollo del carpo en el hipotiroidismo, signos de resorción cortical en el hiperparatiroidismo. Asimismo, muchas enfermedades crónicas también tienen alteraciones óseas que se puede reconocer en este estudio, por ejemplo, osteopenia periarticular y ampliación metafisaria en la artritis idiopática juvenil. Huesos del metacarpo y falanges alargados y gráciles en el síndrome de Marfan, entre otros. De allí que, aunque actualmente se están desarrollando métodos automatizados para la evaluación de la EO sigue siendo importante que la radiografía sea valorada por el radiólogo y el endocrinólogo pediatra en la búsqueda de otros aspectos que puedan ayudar al diagnóstico del paciente. También hay que considerar otros estudios radiográficos como la serie ósea en algunos casos de pubertad precoz; por ejemplo en el síndrome de McCune-Albright que cursa con PPP, en la serie ósea se pueden observar signos característicos como la displasia fibrosa poliostótica y lesiones de esclerosis (figura 4).

Figura 4. Paciente diagnosticada de síndrome de McCune-Albright con pubertad precoz periférica en la que se observan lesiones de esclerosis en el estudio óseo.



2. ECOGRAFÍA

La ultrasonografía o ecografía es un estudio versátil y muy útil por su accesibilidad e inocuidad como prueba complementaria para el diagnóstico y seguimiento en el campo de la endocrinología pediátrica. Ya se comentó en la sección anterior la utilidad que podría tener incluso en la determinación de la maduración ósea. Aunque donde adquiere, sin duda, relevancia es en la evaluación de las características de los órganos sexuales en niñas y niños y también en la evaluación de las alteraciones adrenales.

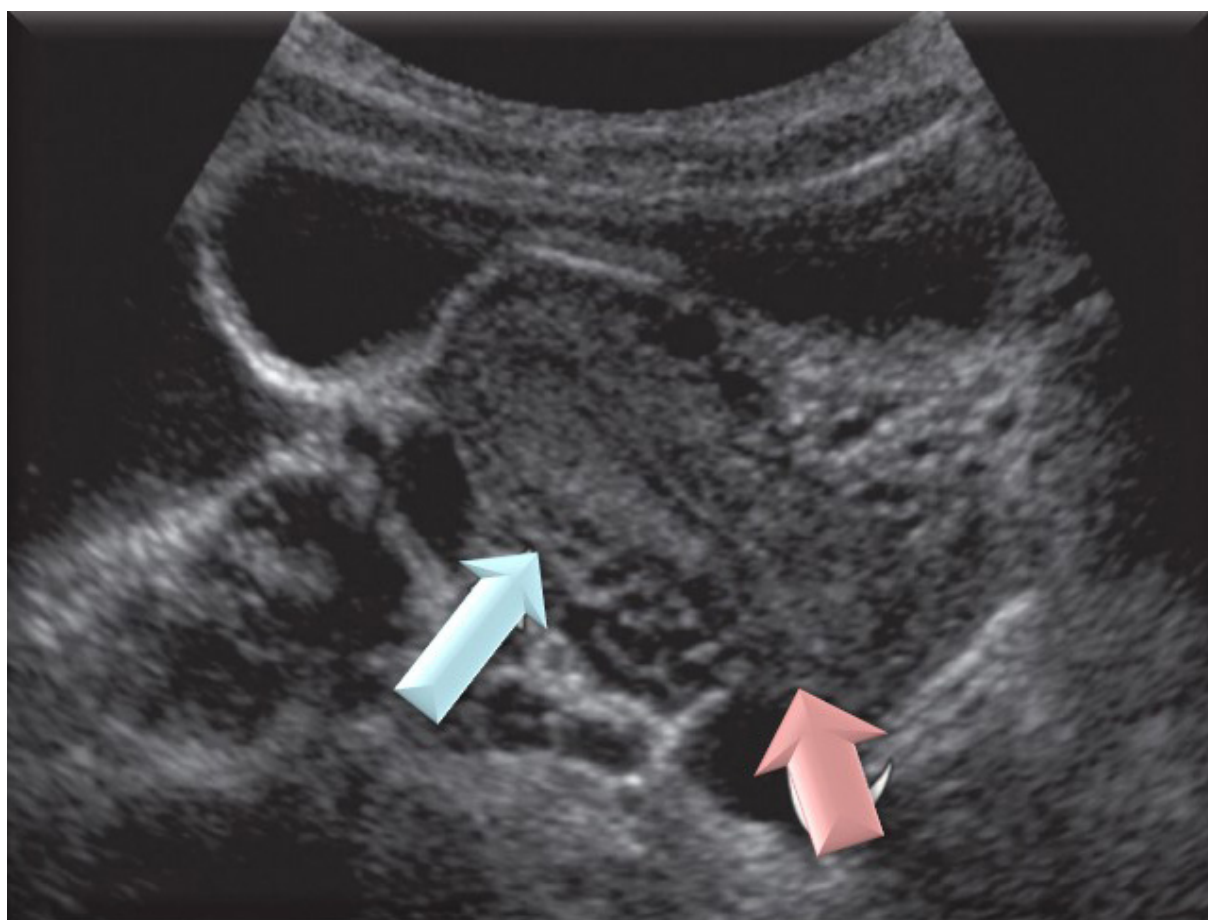
Esta técnica de imagen resulta de primera elección para la evaluación de la anatomía normal de pelvis, ovarios, testículo y en consecuencia en la evaluación de la pubertad normal y patológica. Una interpretación adecuada de los hallazgos ecográficos requiere que el ecografista esté familiarizado con la apariencia de los órganos y las características evolutivas de los mismos dependientes de la edad del paciente ⁽²⁵⁻²⁷⁾.

El mejor método de imagen para explorar el tamaño y la morfología de los órganos pélvicos femeninos

es la ecografía. El útero neonatal está agrandado debido a la influencia de las hormonas maternas, el cérvix es más grande que el *fundus*. La longitud máxima del útero es de 3,4 cm, y el diámetro anteroposterior promedio es de 1,4 cm con un máximo de 2,1 cm. En la gran mayoría de las recién nacidas la banda endometrial es visible como una línea ecogénica que puede estar rodeada por un halo hipoeoico. Después de los primeros meses de vida el útero es recto y de configuración tubular, con el cuello uterino del mismo tamaño o ligeramente más largo que el fondo uterino. La longitud media es de 3,3 cm, con un límite de hasta 4-4,5 cm a los 7 años de edad. El límite superior de normalidad para el diámetro anteroposterior del útero prepuberal es de 1 cm. El revestimiento endometrial generalmente no es visible, aunque con transductores de alta frecuencia podría verse. Al inicio de la pubertad debido a la influencia estrogénica se observa un agrandamiento mayor del fondo uterino con respecto al cuello uterino, la línea endometrial se podría observar y el útero adquiere la forma de pera característica de la mujer (figura 5) ^(5, 28).

Los ovarios se pueden visualizar en la ultrasonografía transabdominal en la mayoría de las niñas pre-

Figure 5. Imagen ecográfica que muestra la morfología del útero puberal.



Se observa que el cuerpo uterino (flecha azul) es más grande que el cuello uterino (flecha rosa). (Adaptado ⁵).

púberes. El tamaño y la apariencia del ovario en las niñas es más variable de lo que se creía. En los primeros meses de vida, el volumen medio de los ovarios es de 1,06 cm³ con un límite superior de 3,6 cm³. Este volumen máximo disminuye a 2,7 cm³ a la edad de 12 meses, luego a 1,7 cm³ entre el primer y el segundo año de vida. Después de los 2 años, el volumen medio permanece por debajo de 1 ml hasta los 7 años. El ovario prepuberal entre los 2 y 7 años de edad suele ser homogéneo, pero muchas niñas tienen algunos folículos pequeños (< 9 mm). Se han encontrado folículos pequeños en el 84% de los ovarios en niñas menores de 2 años y en al menos la mitad de las niñas prepúberes mayores de 2 años. Solo un porcentaje pequeño de niñas sanas en edad prepuberal tienen quistes más grandes (> 9 mm) ⁽⁵⁾.

Los ovarios de pacientes con pubertad precoz e incluso con telarquia prematura aislada o adrenarquia pueden tener un ovario con una morfología madura con seis o más quistes pequeños o incluso mayores de 9 mm. No obstante, para muchos clínicos el tamaño y la forma del útero son unos indicadores de estimulación estrogénica más confiables que el tamaño y características del ovario ⁽⁵⁾.

En el varón la ecografía y los transductores de alta frecuencia permiten identificar perfectamente a los testículos en el interior del escroto o en el canal inguinal. Los testículos de un neonato son bastante pequeños, midiendo 1 cm de longitud. Aumentan lentamente de tamaño hasta la pubertad, cuando la liberación de gonadotropinas provoca un agrandamiento rápido de los testículos. Aparte de su reducido tamaño, los testículos de los niños pequeños son similares en su patrón ecográfico al de etapas posteriores del desarrollo. Su morfología es ovoide con un apéndice superior en forma de coma que corresponde al epidídimo y un contenido con un patrón ecogénico medio y homogéneo ⁽²⁴⁾.

La ecografía y su papel en el diagnóstico de la patología de la pubertad

Los estudios ecográficos constituyen una herramienta diagnóstica en el estudio de la patología puberal que aporta información relevante en la investigación de la etiopatogenia del cuadro clínico, especialmente en los casos de sospecha clínica de PPP ⁽⁵⁾.

El conocimiento de la apariencia ecográfica normal de los órganos pélvicos es la base para el reconocimiento de los hallazgos patológicos. El ultrasonido es el estudio de imagen de elección para evaluar los órganos pelvianos, especialmente en la niña, y sus indicaciones incluyen el estudio de quistes observados en ultrasonido fetal, malformaciones uro-

genitales en recién nacidos, pubertad precoz, flujo vaginal o sangrado anormal y amenorrea ^(26, 28).

La ecografía pélvica en la niña puede detectar quistes ováricos e incluso tumores. El volumen uterino mayor a 2,0 ml ha mostrado un 89% de sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de pubertad precoz ⁽²⁾. El hallazgo de un quiste ovárico de 9 mm o más en una niña con pubertad precoz es muy sugestivo de PPP debida a la secreción autónoma de estrógenos ováricos, en estos casos el ovario contralateral está dentro de los límites de tamaño normal, pero el útero tiene una morfología y tamaño puberal debido a la estimulación estrogénica. Por el contrario, las niñas con PPC a menudo tienen quistes bilaterales pequeños (< 9 mm). Los quistes ováricos también se observan en niñas con hipotiroidismo antiguo no tratado. Estos quistes generalmente son bilaterales. El tratamiento con tiroxina produce una regresión de los mismos ^(5, 24-29).

En el varón la ecografía testicular puede detectar microlitiasis testicular que se encuentra en la mayoría de los niños con síndrome de McCune-Albright, tumores de las células de Sertoli, tumores de células de Leydig no palpables y debe realizarse en casos de observarse asimetría testicular o pubertad precoz periférica. Los tumores de células de Leydig representan alrededor del 1% -3% de todos los tumores testiculares. Aproximadamente el 20% de los casos ocurren en pacientes menores de 10 años de edad y son con frecuencia unilaterales y solitarios, pero el 3% son bilaterales. Estos tumores producen esteroides sexuales dando lugar a síntomas de pubertad precoz. Alrededor del 10% -15% de los tumores de células de Leydig son malignos ^(5, 24-29).

3. RESONANCIA MAGNÉTICA

En todos los casos de pubertad precoz central progresiva la RM cerebral debería realizarse para determinar si existe una lesión hipotálamo hipofisaria. La prevalencia de estas alteraciones es más alta en varones (40 a 90%) que en niñas (8-33%) con pubertad precoz; aunque cuando la pubertad en ellas se inicia después de los 6 años la prevalencia puede disminuir a un 2%, según algunos estudios. Diferentes autores han intentado desarrollar algoritmos diagnósticos para la toma de decisión de realización de RM basados en la edad y niveles de estradiol que podría excluir la necesidad de su realización en un tercio de las niñas, aunque no han sido validados. Hay estudios que señalan que, a una menor edad, una rápida progresión de la pubertad y altas concentraciones de estradiol son factores que pueden predecir un mayor riesgo de anormalidades cerebrales. En este sentido hay autores que señalan en base a sus observaciones que niñas que presentaban hamartomas hipotalámicos eran menores de

6 años y tenían elevadas las medias tanto basales como estimuladas de LH, la razón LH/FSH, las concentraciones de estradiol y también la longitud uterina. Sin embargo, esta información no parece ser predictiva claramente de lesión cerebral, ya que todos los parámetros se superponen ampliamente en las niñas con y sin lesiones cerebrales^(2-3, 30).

La RNM permite valorar las características anatómicas de la región hipotálamo-hipofisaria y detectar alteraciones congénitas, quistes hipofisarios, hamartomas del *tuber cinereum* (figura 6), lesiones tumorales hipotalámicas e hipofisarias como el craneofaringioma y el astrocitoma, así como tumores de la región pineal entre otros. De ellos es el hamartoma hipotalámico la lesión del SNC que con más frecuencia se relaciona con casos de PPC, especialmente cuando la clínica se presenta a edades tempranas. Los hamartomas pueden sésiles (intra-hipotalámicos) o pedunculados (parahipotalámicos). Los pedunculados son los que más se asocian con PPC^(5, 25).

También se han encontrado en pacientes con PP hallazgos incidentales en la resonancia magnética cerebral que no parecen estar relacionados con el

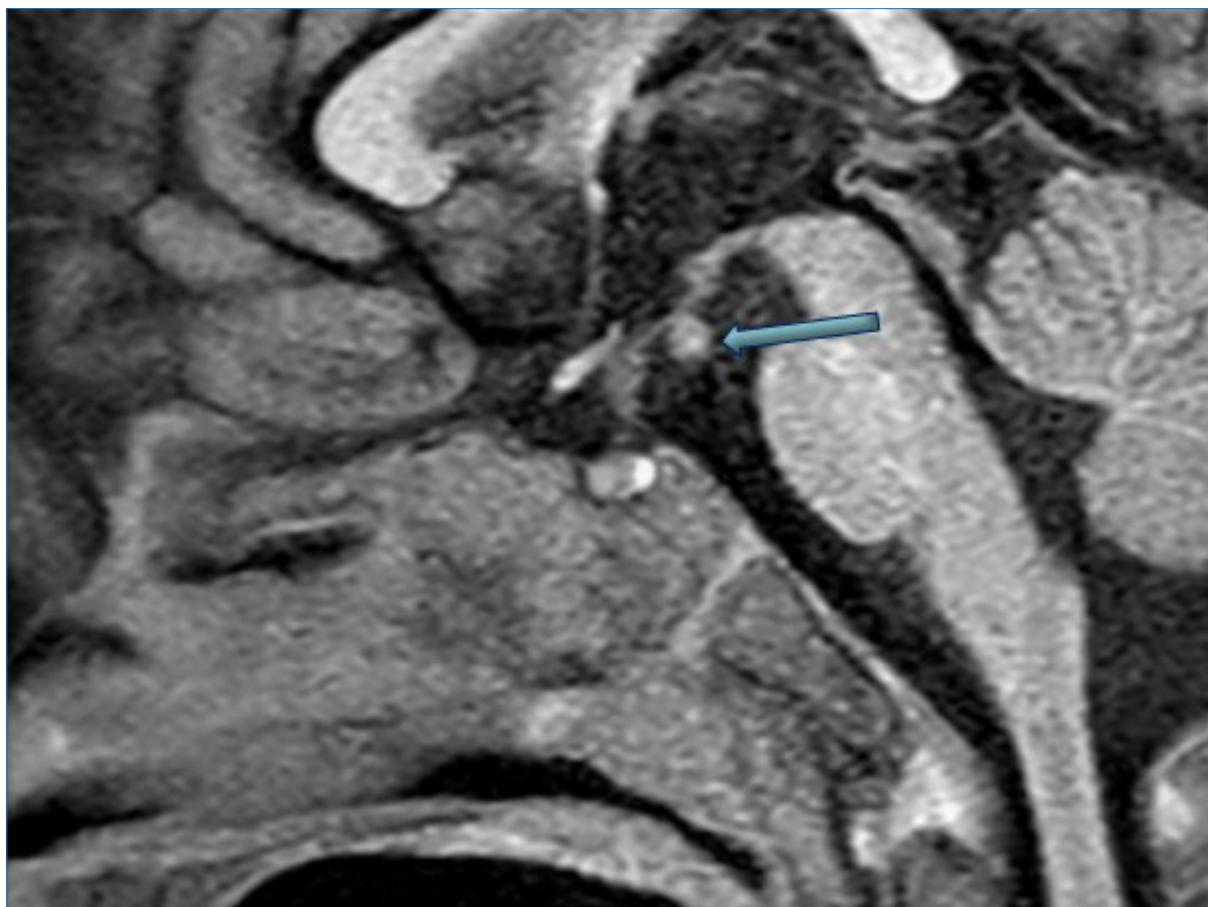
cuadro clínico y que generan preocupación en la familia y en ocasiones estudios repetitivos innecesarios. Entre los más frecuentemente descritos, 11% de los casos, se encuentran agrandamiento de la glándula, microadenomas y quistes pineales^(3, 31-32).

La resonancia magnética cerebral no parece ser útil en pacientes con historia familiar de PPC. En estos casos los estudios genéticos podrían preceder a la realización de la RM, que podría posponerse al resultado del estudio genético o incluso evitar su realización. Por ejemplo, en pacientes portadores de mutaciones de pérdida de función en *MKRN3*, causa frecuente de enfermedad familiar, ya que no muestran alteraciones en la RM^(3, 33).

CONCLUSIONES

- Las pruebas de imagen en la evaluación de la pubertad y patología asociada continúan siendo parte de las pruebas complementarias fundamentales para efectuar una adecuada aproximación diagnóstica y seguimiento clínico y terapéutico.

Figura 6. RM cerebral centrada en región sellar en la que se identifica (flecha) un hamartoma del tuber cinereum en un niño de 1,1 años de edad con pubertad precoz.



- Entre las pruebas habría que destacar la evaluación de la EO que, aunque es una medida cualitativa y no cuantitativa, proporciona tanto en el estudio de la pubertad precoz como de la pubertad retrasada información relevante necesaria para precisar el diagnóstico clínico, la evolución e incluso para apoyar decisiones terapéuticas y monitorización de su eficacia.
- Pruebas de imagen como la ecografía pélvica, la ecografía testicular, y la RNM cerebral ayudan a precisar el diagnóstico etiológico en el paciente con patología puberal y también son un apoyo en el seguimiento clínico.
- La ecografía pélvica en la niña puede detectar quistes ováricos e incluso tumores. El volumen uterino mayor a 2.0 ml ha mostrado un 89% de sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de pubertad precoz y la ecografía testicular puede detectar tumores de células de Leydig no palpables y debe realizarse en casos de observarse asimetría testicular o pubertad precoz periférica.
- La PPC suele ser idiopática en las niñas mientras que en los niños se relaciona con lesiones del SNC con mayor frecuencia; siendo por tanto esencial la realización de una RNM cerebral en ellos. En las niñas, aunque se discute su realización, debería siempre realizarse en las menores de 6 años. En las mayores de esta edad es discutible, aunque la mayoría de los centros continúan incluyéndola en el plan diagnóstico.
- A pesar de la importancia de las pruebas de imagen para el diagnóstico de los trastornos de la pubertad; solo son útiles en el contexto de una evaluación clínica exhaustiva que incluya una anamnesis, exploración física y auxológica completa, realización de pruebas bioquímicas e incluso genéticas. La integración de estos aspectos es la única forma de llegar a una aproximación diagnóstica del cuadro clínico que presenta el paciente y, además, permite valorar el momento apropiado para el inicio y fin del tratamiento en el paciente que lo requiera.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés en relación con este artículo.

Abreviaturas: EC: Edad cronológica, EO: Edad ósea, G&P: Greulich y Pyle, MO: Maduración ósea, mSv: milisievert, PPC: pubertad precoz central, PPP: pubertad precoz periférica, RM: resonancia magnética, SNC: Sistema Nervioso Central, TAC:

Tomografía Axial Computarizada, TW: Tanner y Whitehouse, RCCP: retraso constitucional del crecimiento y la pubertad.

Referencias Bibliográficas

1. Nathan BM, Palmert MR. Regulation and disorders of pubertal timing. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2005;34(3):617-41.
2. Carel JC, Léger J. Clinical practice. Precocious puberty. *N Engl J Med.* 2008;358 (22):2366-77.
3. Latronico AC, Brito VN, Carel JC. Causes, diagnosis, and treatment of central precocious puberty. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2016; 4(3):265-74.
4. Lazar L, Phillip M. Pubertal Disorders and Bone Maturation. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2012; 41(4):805-25.
5. Chung EM, Biko DM, Schroeder JW, Cube R, Conran RM. From the radiologic pathology archives: precocious puberty: radiologic-pathologic correlation. *Radiographics* 2012; 32(7): 2071-99.
6. Acchermann J.C. Delayed puberty. En *Pediatric Endocrinology. Mechanisms, Manifestations and Management.* Pescovitz O H and Eugster E A. Ed. Lippincott Williams & Wilkins Philadelphia USA, 2004: 334-348 .
7. Martin DD, Wit JM, Hochberg Z, Säwendahl L, van Rijn RR, Fricke O, et al. The use of bone age in clinical practice– part 1. *Horm Res Paediatr* 2011; 76: 1-9.
8. Martin D.D, Wit J.M, Hochberg Z, van Rijn R.R, Fricke O, Werther G, et al. The use of bone age in clinical practice– part 2. *Horm Res Paediatr* 2011; 76: 10-16.
9. Greulich WW, Pyle S. Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist. *Am J Med Sci* 1959; 238 (3): 393.
10. Tanner JM, Whitehouse RH, Cameron N, Marshall WA, Healy MJR, Goldstein H. Assessment of skeletal maturity and prediction of adult height, 2nd ed. London: Academic Press, 1983.
11. De Sanctis V, Di Maio S, Soliman AT, Raiola G, Elalaily R, Millimaggi G. Hand X-ray in pediatric endocrinology: skeletal age assessment and beyond. *Indian J Endocrinol Metab* 2014; 18 (Suppl 1): S63-71.

12. Bull RK, Edwards PD, Kemp PM, Fry S, Hughes IA. Bone age assessment: a large scale comparison of the Greulich and Pyle, and Tanner and Whitehouse (TW2) methods. *Arch Dis Child* 1999; 81 (2): 172-3.
13. Tanner JM, Whitehouse RH, Healy MJR. A new system for estimating the maturity of the hand and wrist, with standards derived from 2600 healthy British children. Part II. The scoring system. Paris, International Children's Centre; 1962.
14. Tanner JM, Whitehouse RH, Cameron N..., Assessment of skeletal maturity and prediction of adult height (TW2 method), 2a ed London. Academic Press Limited 1975.
15. Hernández M. El patrón del crecimiento humano y su evaluación. En *Tratado de Endocrinología Pediátrica*. 4ta Edición. Pombo ed. Mc Graw Hill interamericana 2009: 152-174.
16. Tanner JM, Healy MJR, Goldstein H, et al. Assessment of skeletal maturity and prediction of adult height (TW3 method). 3rd ed. London: Saunders; 2001
17. Satoh M. Bone age: assessment methods and clinical applications. *Clin Pediatr Endocrinol* 2015; 24:143-52.
18. Thodberg HH, Kreiborg S, Juul A, Pedersen KD. The BoneXpert method for automated determination of skeletal maturity. *IEEE Trans Med Imaging* 2009; 28: 52-56.
19. Terada Y, Kono S, Tamada D, Uchiumi T, Kose K, Miyagi R, et al. Skeletal age assessment in children using an open compact MRI system. *Magn Reson Med* 2013; 69: 1697-702.
20. Terada Y, Kono S, Uchiumi T, Kose K, Miyagi R, Yamabe E, et al. Improved reliability in skeletal age assessment using a pediatric hand MR scanner with a 0.3T permanent magnet. *Magn Reson Med Sci* 2014;13: 215-9.
21. Mentzel HJ, Vilser C, Eulenstein M, Schwartz T, Vogt S, Böttcher J, et al. Assessment of skeletal age at the wrist in children with a new ultrasound device. *Pediatr Radiol* 2005; 35: 429-33.
22. Shimura N, Koyama S, Arisaka O, Imataka M, Sato K, Matsuura M. Assessment of measurement of children's bone age ultrasonically with Sunlight BonAge. *Clin Pediatr Endocrinol* 2005;14 (Suppl 24): 17-20.
23. Khan KM, Miller BS, Hoggard E, Somani A, Sarafoglou K. Application of ultrasound for bone age estimation in clinical practice. *J Pediatr* 2009;154 (2): 243-7.
24. Rachmiel M, Naugolni L, Mazor-Aronovitch K, Koren-Morag N, Bistrizter T. Bone Age Assessments by Quantitative Ultrasound (SonicBone) and Hand X-ray Based Methods are Comparable. *Isr Med Assoc J*. 2017;19(9):533-538.
25. Rovira i Gols A, Sentis i Crivellé M, Bertomeu Valecillos M. Diagnóstico por la imagen en endocrinología pediátrica. En: *tratado de Endocrinología Pediátrica IV Edición*. M. Pombo ed. McGraw Hill Interamericana 2009: 913-941.
26. Asăvoaie C, Fufezan O, Coșarcă M. Ovarian and uterine ultrasonography in pediatric patients. Pictorial essay. *Med Ultrason*. 2014;16(2): 160-7.
27. Badouraki M1, Christoforidis A, Economou I, Dimitriadis AS, Katzos G. Sonographic assessment of uterine and ovarian development in normal girls aged 1 to 12 years. *J Clin Ultrasound*. 2008;36(9):539-44.
28. Badouraki M1, 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(6):819-27
29. Stranzinger E1, Strouse PJ. Ultrasound of the pediatric female pelvis. *Semin Ultrasound CT MR*. 2008;29(2):98-113.
30. Chalumeau M, Chemaitilly W, Trivin C, Adan L, Bréart G, Brauner R. Central precocious puberty in girls: an evidence-based diagnosis tree to predict central nervous system abnormalities. *Pediatrics*. 2002;109(1):61-7
31. Mogensen SS, Aksglaede L, Mouritsen A, Sørensen K, Main KM, Gideon, et al. Pathological and incidental findings on brain MRI in a single-center study of 229 consecutive girls with early or precocious puberty. *PLoS One*. 2012;7(1):e29829
32. Pedicelli S, Alessio P, Scirè G, Cappa M, Cianfarani S. Routine screening by brain magnetic resonance imaging is not indicated in every girl with onset of puberty between the ages of 6 and 8 years. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99: 4455-61.
33. Abreu AP, Dauber A, Macedo DB, Noel SD, Brito VN, Gill JC, et al. Central precocious puberty caused by mutations in the imprinted gene MKRN3. *N Engl J Med* 2013; 368: 2467-75.

Indicaciones, eficacia y seguridad del tratamiento con análogos de GnRH

Indications, efficacy and safety of GnRH analogs treatment

Raquel Corripio Collado

Unidad Endocrinología Pediátrica. Servicio de Pediatría. Corporació Sanitària Parc Taulí. Institut Universitari Parc Taulí-UAB. Universitat Autònoma de Barcelona. Sabadell

Resumen

Antecedentes: Los análogos de GnRH (aGnRH) son el tratamiento de elección para la pubertad precoz central (PPC) con el objetivo principal de preservar el potencial de crecimiento. **Objetivos:** analizar los efectos a largo plazo en talla, peso, función reproductiva y densidad mineral ósea en pacientes tratados por PPC así como los potenciales predictores de resultado. Puesto que no se disponen de ensayos randomizados controlados sólo podemos presentar conclusiones cualitativas. **Métodos:** búsqueda bibliográfica usando la base de datos Pubmed con las cadenas "pubertad precoz y tratamiento (o GnRH análogos)" y talla, índice de masa corporal, fertilidad, sin limitar los datos. Se añadieron artículos manualmente del listado de referencias de los obtenidos. **Resultados:** El tratamiento con aGnRH mejora la talla adulta en niñas con PPC, especialmente en las menores de 6 años, muy controvertido en niñas de 6-8 años y sin beneficio a partir de los 8 años de edad. La función gonadal se restaura rápidamente tras el cese del tratamiento y el potencial reproductor parece ser normal en la adulta. Existen datos discordantes sobre el riesgo de síndrome de ovario poliquístico en tratadas versus no tratadas. La masa grasa aumenta durante el tratamiento, pero no parece inducir o agravar la

obesidad. No parece tener un impacto negativo en la densidad mineral ósea. Por falta de datos, no se pueden abstraer conclusiones sobre la repercusión en la menopausia y en la descendencia. Conclusiones: el tratamiento con aGnRH parece seguro y eficaz en la restauración del potencial genético de talla en la PPC.

Palabras clave: aGnRH, pubertad precoz, tratamiento, pronóstico

Abstract

Background: GnRH analogs (aGnRH) are the treatment of choice for central precocious puberty (CPP) with the main objective of preserving growth potential. **Objectives:** To analyze the long-term effects on height, weight, reproductive function and bone mineral density in CPP patients treated as well as potential predictors of outcome. Since we do not have randomized controlled trials, we can only present qualified conclusions. **Methods:** PubMed databases with "precocious puberty and treatment (or GnRH analogues)" and height, body mass index, fertility, without limiting the data. Manuscripts were added manually from the list of references obtained. **Results:** Treatment with aGnRH improves adult height in girls with CPP, especially in children under 6 years old, very controversial in girls aged 6-8 years and without benefit from 8 years of age. Gonadal function is rapidly restored after cessation of treatment and reproductive potential appears to be normal in the adult. Discordant data exist on the risk of polycystic ovary syndrome in treated versus untreated. Fat mass increases during treatment, but does not seem to be perpetuated in the long term. It does not appear to have a negative impact on bone

Correspondencia:

Raquel Corripio Collado, Unidad Endocrinología Pediátrica. Servicio de Pediatría, Corporació Sanitària Parc Taulí. Institut Universitari Parc Taulí-UAB. Universitat Autònoma de Barcelona, C/ Parc Taulí S/N, 08208, Sabadell, Tel: 0034937458412
E-mail: rcorripio@tauli.cat
E-mail: raquelcorripio@gmail.com

mineral density. Due to lack of data, no conclusions can be drawn on the impact on menopause and offspring. **Conclusions:** aGnRH treatment seems safe and effective in restoring the genetic height potential in CPP.

Introducción

La pubertad es un importante hito en el desarrollo que puede ser considerada como una secuencia compleja de acontecimientos biológicos, que conducen a la maduración progresiva de las características sexuales y en última instancia a la consecución de la plena capacidad reproductiva. Esta resulta de la reactivación del eje hipotálamo-hipofisario gonadal tras el período quiescente infantil. Se caracteriza por un aumento de la amplitud y frecuencia de los pulsos del factor hipotalámico liberador de gonadotropinas (GnRH), que promueve la liberación hipofisaria de gonadotropinas, conduciendo a la activación de la función gonadal ⁽¹⁾.

La pubertad precoz se define clínicamente como la aparición de caracteres sexuales secundarios ^(2, 3): Tanner II o telarquía en la niña antes de los 8 años y aumento del volumen testicular ³ 4 cc en los niños. Ocurre en 1 de cada 5.000-10.000 niños con predominio en el sexo femenino (3-23:1 varón). Las niñas presentan típicamente formas idiopáticas, mientras que en los varones se debe mayormente a causas orgánicas⁽⁴⁾. Los factores genéticos (mutaciones en *KISS1*, *KISS1R* y *MKRN3*), la tendencia secular, etnia, estado nutricional y cambios ambientales han sido involucrados en la patogénesis de la PPC ⁽⁵⁻¹²⁾.

También los factores psicológicos tal y como el estrés, migración, adopción, ausencia de padre o hiperssexualización de la cultura se han nominado como posibles factores influenciadores ^(13, 14).

La justificación principal por la que la pubertad precoz central (PPC) continúa siendo tema de debate en la literatura científica viene dada por su asociación a distintas comorbilidades. De esta forma, la talla y la afectación psicológica han sido las principales preocupaciones a corto-medio plazo, mientras que el aumento en el riesgo cardiovascular y la asociación a neoplasia constituyen las principales a largo plazo ⁽¹⁵⁾.

La talla baja, causada por la rápida maduración esquelética por la exposición precoz de las fisis a los esteroides gonadales, es el principal evento desfavorable asociado a la pubertad precoz. Las cohortes históricas de pacientes afectados de PPC no tratados muestran una talla media final de 151-156 cm en chicos y 150-154 cm en chicas, estando la pérdida de talla inversamente correlacionada con la edad del inicio puberal ⁽⁴⁾.

El tratamiento tiene como objetivo inhibir la secreción gonadal de esteroides, o tratar la causa subyacente cuando sea posible, para permitir un crecimiento y maduración sexual normales. La decisión de tratar dependerá de la edad de inicio y ritmo puberal, talla adulta estimada e impacto psicológico del desarrollo sexual prematuro. El tratamiento es indiscutible en formas rápidamente progresivas, definido en base a criterios clínicos, radiológicos y bioquímicos, mientras que no siempre se requiere en formas no o lentamente progresivas ⁽¹⁶⁾.

Los análogos de GnRH (aGnRH) están disponibles desde 1980 y son el tratamiento de elección de la PPC progresiva ⁽¹⁷⁾. Derivan de una sustitución química en la posición 6 y 10 de la molécula nativa de GnRH, que aumenta su resistencia a la degradación enzimática y su afinidad por el receptor pituitario de GnRH, conduciendo a una desensibilización del receptor y, finalmente, a la inhibición en la secreción de gonadotropinas y regreso de los esteroides sexuales a niveles prepuberales ⁽¹⁸⁾. Se dispone de diferentes principios activos y formulaciones. Se prefieren las formas depot, por su mejor cumplimiento. La elección del fármaco dependerá de la experiencia del médico, necesidades del paciente y regulaciones gubernamentales en la prescripción farmacológica ⁽¹⁶⁾.

El tratamiento con aGnRH es bien tolerado en general. Los principales efectos indeseables son el dolor o reacción local y los abscesos estériles ⁽¹⁹⁾, seguidos de síntomas menores menopáusicos (sofoco, cefalea y náuseas), mientras que la anafilaxia es extremadamente rara ⁽²⁰⁾.

Desde el inicio del uso con aGnRH en los años 80, se ha podido demostrar sus efectos favorables en la talla, aunque la ganancia neta de estatura continúa siendo tema de debate, ya que no se han realizado estudios controlados aleatorizados ^(21, 22). Además, existe preocupación del potencial efecto negativo en el peso y perfil metabólico, densidad mineral ósea (DMO) y función reproductora en el adulto.

En algunos casos de PPC, se ha asociado hormona de crecimiento a los aGnRH con una ganancia de talla de unos 3 cm de media respecto a aGnRH sola y sin efectos adversos, a excepción de aumento de IGF-I e insulina por encima de lo normal en el grupo combinado ⁽²³⁾.

El objetivo de esta revisión fue analizar las indicaciones, eficacia y seguridad del tratamiento con aGnRH en la PPC.

Métodos

Búsqueda bibliográfica usando la base de datos Pubmed con las cadenas "pubertad precoz y trata-

Tabla 1. Preparados de GnRH depot.

Preparado depot	Nombre comercial	Dosis
Goserelina	Zoladex LA	3,6 mg cada mes o 10, 8 mg cada 3 meses
Buserelina	Suprefact	6,3 mg cada 2 meses
Leuprolide	Lupron depot	3,75 mg cada mes u 11,25 ó 30 mg cada 3 meses
Triptorelina	Decapeptyl Gonapeptyl	3,75 mg cada mes u 11,25 cada 3 meses o 22,5 mg cada 6 meses
Histrelina	Supprelin LA	Implante de 50 mg cada 1-2 años

(Adaptado de Carel JC. Pediatrics 2009). Algunos autores utilizan 70-100 mg/kg en vez de 3,75 mg.

miento (o GnRH análogos)” y talla, índice de masa corporal, fertilidad, sin limitar los datos. Se añadieron artículos manualmente del listado de referencias de los obtenidos.

Resultados

Indicación de tratamiento de la PPC con aGnRH

A pesar de las numerosas referencias bibliográficas que abordan como tema principal la pubertad precoz central, existen pocos estudios aleatorizados y controlados que permitan conocer las indicaciones absolutas de tratamiento de los pacientes con PPC. Las razones éticas han sido las más relevantes para no disponer de este tipo de estudios. En cualquier caso, sabemos que no todos los pacientes con PPC necesitan tratamiento frenador de la pubertad y que la eficacia, en cuanto a mejorar el pronóstico de talla final, parece disminuir mucho con la edad. De esta forma, parece que sobre predicción de talla final las niñas por debajo de 6 años tratadas con análogos de GnRH obtendrían los mejores resultados, no siendo tan claros en niñas entre 6 y 8 años. Lo que parece evidente es que en niñas por encima de 8 años el tratamiento con análogos de GnRH no mejora el pronóstico de talla final.

Por tanto, a día de hoy no hay un criterio unánime a la hora de tratar pacientes con PPC. A la hora de enfrentarnos a dicho tratamiento tendremos en cuenta las siguientes variables: edad, edad ósea (EO), pronóstico de talla final y comparación con su talla genética, presencia de alteraciones del comportamiento y/o inteligencia límite/retraso mental y antecedentes de adopción. Teniendo en cuenta todas las variables anteriores, una posible indicación para el tratamiento de PPC sería:

- Edad cronológica < 7 años en niñas, < 8 años en niños
 - Edad ósea > 2 años superior a la cronológica
 - Predicción de talla final 2 SD (10cm) por debajo de la talla diana o < 150 cm en niñas y < 165 cm en niños
 - Pubertad precoz rápidamente progresiva (predicción menarquia < 9 años)
- o
- Disconfort psicológico y/o alteración comportamiento y/o inteligencia límite/retraso mental.

Sin embargo, parecería lógico esperar y postergar la decisión en los casos de PPC con:

- Edad 7-8 años en niñas y 8-9 años en niños
- Edad ósea avanzada < 2 años con respecto a la cronológica.
- Predicción de talla final cerca de la diana o en el rango normal-superior
- Pubertad precoz lentamente progresiva.
- Ausencia de disconfort psicológico o trastornos conductuales y/o inteligencia límite/retraso mental ⁽²⁴⁾.

Fármacos de elección en PPC

Desde los años 80 los análogos de GnRH depot han sido el tratamiento de elección en la PPC. Existen diferentes preparados comerciales que, administrados ya sea de forma mensual o trimestral/semestral (estos últimos preparados han surgido en los últimos años) ^(25, 26), permiten la frenación del eje hipotálamo-hipofisario gonadal (tabla 1). La administración puede ser intramuscular o en algunos de ellos subcutánea ⁽¹⁶⁾. Los preparados depot de GnRH actúan desensibilizando el eje HHGonadal y se considera que el inicio de la deprivación terapéutica tarda 1 mes en producirse. El primer estímulo activa el eje y los siguientes lo inhiben, como respuesta paradójica. Por ello, no es extraño que las niñas muestren sangrado vaginal tras la primera dosis (aspecto del que la familia debería ser avisada). En el año 2007 se incorporó en USA los implantes subcutáneos de histrelina de 1 ó 2 años de duración como posibilidad terapéutica ⁽²⁷⁾. Histrelina es 200 veces más potente que la GnRH nativa, produce una profunda supresión del eje HH gonadal en 1 mes y el implante requiere una cirugía menor con anestesia local. La mayor desventaja es el índi-

ce de rotura al retirarlo (25%). No se disponen de datos de seguimiento a largo plazo ⁽²⁸⁾.

El tratamiento a utilizar en cada caso debe individualizarse y se verá condicionado por la edad de la paciente, tiempo previsto de tratamiento y accesibilidad al mismo ⁽²⁹⁾.

Se prefiere la vía subcutánea a la intramuscular, por ser menos dolorosa.

La monitorización del tratamiento se realiza con parámetros clínicos, radiológicos (edad ósea) y de laboratorio (los valores de LH deben estar suprimidos por debajo de 4 IU/L) ⁽³⁰⁾.

Interrupción del tratamiento

Existe gran heterogeneidad en los estudios acerca del momento óptimo para parar el tratamiento, basándose en general en la edad ósea, talla diana y velocidad crecimiento.

Algunos autores promulgan que no debería prolongarse el tratamiento más allá de los 12-12,5 años de edad ósea, ni más allá de los 11 años de edad cronológica ⁽³¹⁾. Otros consideran que es mejor pararlo cuando se enlentece la velocidad de crecimiento y no más allá de los 11 años de edad ósea. Probablemente, lo más adecuado es no utilizar un único criterio ⁽¹⁶⁾.

Resultados del tratamiento con aGnRH en la PPC

1. Talla adulta

Los aGnRH se han usado ampliamente en el uso de la PPC rápidamente progresiva con el objetivo de restaurar el potencial genético comprometido por el cierre precoz de las fisis a causa de los esteroides gonadales. La gran mayoría de estudios indican algún beneficio del tratamiento sobre el crecimiento estatural, con la limitación de no disponer de ensayos controlados aleatorizados y de que el efecto se haya analizado comparando la talla adulta adquirida con la predicha al inicio del tratamiento o con cohortes históricas no tratadas ⁽³²⁾. La comparación con las últimas tiene valor limitado ya que los datos derivan de un número pequeño de pacientes, habitualmente con formas severas y no toman en cuenta la tendencia secular en el crecimiento a lo largo de las décadas. Además los grupos son heterogéneos en edad, etiología y características del tratamiento ⁽²¹⁾. Los datos analizados de los distintos autores que abordan el impacto del tratamiento con aGnRH sobre la talla, demuestran la eficacia de distintas formulaciones (la inmensa mayoría mensuales) de

aGnRH en evitar la progresión en la edad ósea. Las personas adultas tratadas eran más altas que las reportadas en una serie histórica, ajustadas por edad al diagnóstico, con una diferencia media de 8,3 cm en niñas y 13,7 cm en chicos ⁽³³⁾, y más que las controles no tratadas ajustadas por edad y sexo (diferencia media en talla adulta de 3,3-8,9 cm) ^(33, 34). La gran mayoría alcanzan la talla diana, una minoría no, y una pequeña proporción quedan más pequeñas ^(35, 36).

Los predictores del resultado también varían. La eficacia del tratamiento parece depender principalmente de la edad de diagnóstico y del inicio del tratamiento de la PPC. Un mayor brote de crecimiento tras su interrupción también ha sido propuesto como predictor positivo de resultado ⁽³³⁾. Una talla elevada al diagnóstico y al retirar el tratamiento, así como una mayor talla diana, se correlacionan positivamente con la talla final, soportando la influencia de los factores genéticos en la determinación de la talla adulta, incluso en tratados con aGnRH ⁽³⁷⁾. La edad ósea al final del tratamiento parece ser crucial en la talla adulta, ya que determina el potencial crecimiento post-tratamiento; las mejores tallas fueron conseguidas cuando la interrupción fue a los 11-12,5 años de edad ósea, mientras que continuarlo más allá de los 13 años de EO impactó negativamente en el crecimiento estatural ^(16, 33, 35, 37). La eficacia de los distintos aGnRH en términos de ganancia de talla fue similar.

En definitiva el aumento de talla final esperado es de 3-12 cm (no en > 8 años) y:

- Peor si edad ósea EO muy avanzada
- Preserva potencial de talla diana (> 75%)
- Talla final > 150 cm en > 90%
- Talla final > en tratadas que en no tratadas
- Talla final mejor en las < 6 años de edad ^(16, 32, 33, 38).

Efectos del tratamiento con aGnRH sobre la talla. Registro español PUBERE

El registro nacional de Pubertad Precoz Central (PUBERE) surgió como propuesta del grupo de Pubertad Precoz de la SEEP y se lanzó su funcionamiento durante el Congreso de la SEEP en Madrid (2008). Participan 66 médicos de 53 hospitales del territorio español. Tiene una base telemática a la que se accede a través de la página web de la SEEP (www.seep.es/pubere). Los criterios de inclusión fueron ampliamente discutidos, y, aunque considerados restrictivos por algunos autores, permi-

ten analizar un grupo poblacional muy homogéneo. Los criterios son:

1. Edad nacimiento posterior a 1992
2. Caracteres sexuales antes de 8 años en niñas y 9 años en niños
3. Pico de LH tras test LHRH > 7 UI/l
4. Edad ósea-Edad cronológica ≥ 1 año

Los objetivos principales fueron conocer la prevalencia de pubertad precoz central en España, analizar su epidemiología y estudiar sus causas ⁽¹⁴⁾. Asimismo, se evaluó la evolución del Índice de Masa Corporal en niñas con Pubertad Precoz Central (PPC) tratadas con análogos de GnRH ⁽³⁹⁾.

De los objetivos principales planteados en el estudio PUBERE queda por comprobar la eficacia del tratamiento en la talla adulta. En 2014 se presentaron los resultados preliminares en este sentido en el Congreso de la SEEP. Se analizaron los datos de 407 pacientes (33 varones (8,1%) y 374 mujeres (91,9%). Disponíamos de datos de fin de tratamiento (n=215 niñas), edad de menarquia (n=133) y talla adulta (n=56 niñas). La edad cronológica al inicio del tratamiento ($\bar{x}$) fue $7,25 \pm 1,31$ años, la EO $9,16 \pm 1,51$ años. La EO-EC al diagnóstico fue $2,10 \pm 0,93$ años. La EC de interrupción del tratamiento ($\bar{x}$) fue $10,02 \pm 1,09$ años, coincidiendo con una EO de $11,6$ años $\pm 0,67$ años. Duración del tratamiento: $2,76 \pm 1,25$ años. En los pacientes de los que disponíamos datos, la talla adulta fue de $155,74 \pm 7,87$ cm ($0,14 \pm 1,37$ SDS) (rango 135-168,2 cm) con una pérdida respecto a su talla diana de $-0,92 \pm 1,55$ SDS. Un 46,43% (26 niñas) alcanzaron la talla diana (talla adulta $\geq$ talla diana).

De las 30 que no alcanzaron la talla diana se ha analizado (TH-TA): media $5,28 \pm 3,79$. Rango (0,5-13 cm). Se realizó un modelo mixto de medidas repetidas para las mujeres tomando como variable dependiente la talla-SDS y como variables independientes la edad al diagnóstico, la duración del tiempo tratamiento, la talla al inicio (SDS) y la talla genética. Las variables que predecían la talla final fueron la talla al diagnóstico, la talla genética y la duración de tratamiento (al incrementar las dos primeras se incrementaba la talla final y al aumentar en una unidad (en años) la duración del tratamiento, la talla disminuía en 0,13 unidades). La diferencia entre la talla estimada al diagnóstico y la final fue de $-3,76 \pm 8,61$ cm (IC95%: -6,98 a -0,55 cm) ($p=0,023$). El incremento de talla tras la interrupción del tratamiento fue de $13,1$ cm $\pm 4,3$ cm ($0,54 \pm 0,68$ SDS).

De forma global, la talla adulta de las pacientes afectas de PPC fue significativamente inferior a la

prevista al diagnóstico, aunque dentro de los ± 5 cm de error del método BP. Aunque el tamaño muestral referente a talla adulta fue pequeño y debe incrementarse, parece que la talla final está influenciada negativamente por el tiempo de tratamiento por análogos de GnRH y que el crecimiento tras la retirada del mismo es muy importante para alcanzar una talla óptima. Estos hechos nos deben hacer reflexionar sobre el tiempo idóneo de tratamiento.

(A partir de 2019 podremos presentar los datos de 200 pacientes a talla adulta).

2. Índice de masa corporal y síndrome metabólico ^(34, 40, 41)

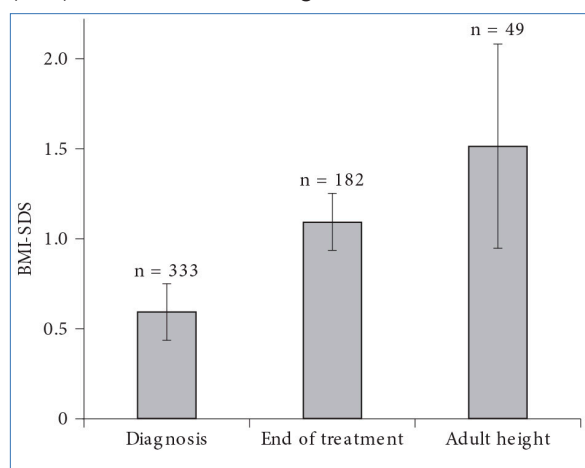
La influencia del tratamiento con aGnRH en la evolución del IMC en niñas con PPC idiopática no estaba clara. Pocos estudios se han centrado en los cambios de peso corporal en esta población de pacientes, informando resultados discordantes. En efecto, algunos autores señalan que el tratamiento con GnRHa está asociado con el aumento de peso ^(42, 43) y que esta condición puede persistir después de la retirada del tratamiento. Este posible efecto secundario es importante, ya que la propia PPC se asocia con frecuencia al sobrepeso ⁽⁴⁴⁾. Por lo tanto, las preocupaciones sobre el uso de GnRHa tratamiento, especialmente en los niños con sobrepeso, han aumentado ⁽⁴⁵⁾. Sin embargo, como se ha indicado anteriormente, los hallazgos reportados hasta la fecha son controvertidos. En efecto, mientras que algunos autores informan que el tratamiento con GnRHa se asocia con el aumento de peso, otros estudios no indican relación entre el tratamiento con GnRHa y un aumento del índice de masa corporal (IMC), mientras que dos estudios demostraron una disminución del IMC con el tratamiento con GnRHa ^(41, 46). Estos hallazgos inconsistentes podrían estar relacionados con varias razones incluyendo: 1. diferentes diseños de estudio, aunque la mayoría de los estudios son retrospectivos; 2. etiología heterogénea, incluyendo CPP orgánico e idiopático; 3. diferentes rangos de edad y estados de peso al inicio del tratamiento con GnRHa, y 4. diferentes estrategias de tratamiento y tiempos de seguimiento.

Efectos del tratamiento con aGnRH sobre el IMC. Registro español PUBERE

En el año 2016 publicamos los resultados preliminares de la evolución del Índice de Masa Corporal en niñas con PPC idiopática tratadas con análogos de GnRH hasta la talla adulta ⁽³⁹⁾. Analizamos los datos de 333 niñas (22,2 % adoptadas). Presentamos datos de seguimiento de 6, 12, 24, 36, 48, 60 meses y de talla adulta de 269, 232, 198, 153, 105, 56 y 49 niñas respectivamente. Durante el tratamiento,

hubo un incremento del IMC-SDS de $0,43 \pm 1,17$ (95% CI: 0,20–0,64). A talla adulta ($n = 49$), IMC-SDS fue $1,51 \pm 1,38$, que era $0,60 \pm 1,09$ mayor que al diagnóstico (95% CI: 0,43–0,75) (Figura 1). Concluimos que durante el tratamiento con aGnRH, las niñas experimentaban un aumento significativo del IMC-SDS que persistía tras interrumpir el tratamiento y se había alcanzado la talla adulta.

Figura 1. Evolución del índice de masa corporal (BMI) en SDS desde el diagnóstico hasta talla adulta.



(Gráfico tomado de ref 39).

Por tanto, parece prudente recomendar realizar seguimiento de IMC en las niñas tratadas e indicar hábitos higiénico-sanitarios saludables para prevenir el sobrepeso y la obesidad.

3. Función reproductora y riesgo de síndrome de ovario poliquístico

Parece clara la reversibilidad de la supresión presentándose la menarquia a los 1,2 años de media. En la última década, en USA disponen de un implante subcutáneo liberador de histrelina de forma continua durante al menos 1 año. El tiempo medio entre la retirada del implante y la menarquia es menor (2-36 meses).

En el registro PUBERE, la edad de la menarquia se produjo de media a los 11,1 años (rango 7,41-14). El tiempo transcurrido desde el fin del tratamiento a la menarquia fue de 13,6 meses (rango: 0,4 a 28 meses), coincidiendo con datos referidos de otros estudios.

También parece evidente la preservación en la fertilidad. La frecuencia de gestaciones complicadas (pre-eclampsia o abortos) es comparable entre mujeres tratadas y controles⁽⁴⁷⁾. Además, el porcentaje de mujeres que precisaron inducción de la ovulación o técnicas de fecundación in vitro fue mayor en

las no tratadas, sugiriendo un efecto protector del tratamiento supresor en el pronóstico reproductivo de la mujer con PPC.

Por otro lado, los valores de hormona antimülleriana como marcador de reserva folicular, no se modificaron, antes, durante ni tras el tratamiento con aGnRH, en 505 niñas tratadas⁽⁴⁸⁾.

El volumen ovárico superior a 10mL fue similar en PPC tratadas que en controles sanas de la misma edad. El desarrollo de síndrome de ovario poliquístico en mujeres con antecedente de PPC es un punto controvertido en la literatura, con datos limitados y criterios heterogéneos entre estudios. El hiperandrogenismo clínico parece más frecuente en las PPC que en controles siendo el riesgo relativo el doble en las no tratadas vs las tratadas. Entre las tratadas, algunas recibieron acetato de ciproterona con resultados similares a los aGnRH en este sentido, sugiriendo que es la supresión puberal per se la que reduce el riesgo de SOP, más que el tipo de tratamiento⁽⁴⁹⁾. Esta cohorte histórica de mujeres de Israel de 27-50 años de edad, también nos muestra que no existe mayor índice de enfermedad cardiovascular ni de cáncer en mujeres con antecedente de PPC (tratadas o no).

Los datos disponibles sobre los resultados reproductivos en el varón tratado por PPC son escasos, el espermiograma realizado en 6 varones adultos fue normal y el aumento de volumen testicular tras retirar el implante de histrelina se observó en el primer año tras retirarlo en 5 más^(22, 28).

4. Densidad mineral ósea

Pocos estudios han evaluado la DMO durante el tratamiento con aGnRH en PPC, mostrando ninguno o mínimos cambios en los parámetros de DMO. Un grupo encontró DMO normal para la edad cronológica, pero disminuido para edad ósea tras 2 años de tratamiento con aGnRH⁽⁴⁶⁾. Otro reportó una disminución al interrumpir el tratamiento pero que recuperaba al restablecerse la función gonadal⁽³⁴⁾. Así la DMO no parece afectada por la PPC y el tratamiento con aGnRH no parece provocar un detrimento en la adquisición de masa ósea a largo plazo.

5. Direcciones futuras.

La expansión del uso de histrelina fuera de USA como modalidad terapéutica está por determinar.

Existe un déficit en el conocimiento de la posible asociación entre PPC y problemas psicológicos y si los tratamientos frenadores alivian este aspecto⁽⁵⁰⁾.

Conclusiones

- El tratamiento con aGnRH es eficaz en restaurar el potencial de crecimiento en la mayoría de niños con PPC menores de 6 años de edad.
- Los niños con PPC experimentan un incremento de IMC durante el tratamiento con aGnRH, pero no parece causar o agravar su obesidad.
- Los datos a largo plazo no muestran consecuencias adversas del tratamiento con aGnRH sobre la densidad mineral ósea.
- La función gonadal está preservada tras interrumpir el tratamiento, con potencial reproductor normal e incluso se ha sugerido un efecto protector del tratamiento sobre el mismo. Los datos sobre la correlación entre PCOS y aGnRH son discordantes.
- Se precisan datos para evaluar el impacto de aGnRH sobre factores psicológicos así como la fertilidad y salud de la descendencia.

Conflicto de intereses

No existe conflicto de intereses.

Referencias Bibliográficas

1. Terasawa E, Fernandez DL. Neurobiological mechanisms of the onset of puberty in primates. *Endocr Rev.* 2001;22(1):111-51.
2. Marshall W, Tanner J. Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child.* 1969;44(235):291-303.
3. Marshall W, Tanner J. Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child.* 1970;45(239):13-23.
4. Carel JC, Léger J. Clinical practice. Precocious puberty. *N Engl J Med.* 2008;358(22):2366-77.
5. Ojeda SR, Lomniczi A, Mastronardi C, Heger S, Roth C, Parent AS, et al. Minireview: the neuroendocrine regulation of puberty: is the time ripe for a systems biology approach? *Endocrinology.* 2006;147(3):1166-74.
6. Abreu AP, Dauber A, Macedo DB, Noel SD, Brito VN, Gill JC, et al. Central precocious puberty caused by mutations in the imprinted gene MKRN3. *N Engl J Med.* 2013;368(26):2467-75.
7. Teles MG, Silveira LF, Tusset C, Latronico AC. New genetic factors implicated in human GnRH-dependent precocious puberty: the role of kisspeptin system. *Mol Cell Endocrinol.* 2011;346(1-2):84-90.
8. Martos-Moreno GA, Chowen JA, Argente J. Metabolic signals in human puberty: effects of over and undernutrition. *Mol Cell Endocrinol.* 2010;324(1-2):70-81.
9. Euling SY, Selevan SG, Pescovitz OH, Skakkebaek NE. Role of environmental factors in the timing of puberty. *Pediatrics.* 2008;121 Suppl 3:S167-71.
10. Sørensen K, Mouritsen A, Aksglaede L, Hagen CP, Mogensen SS, Juul A. Recent secular trends in pubertal timing: implications for evaluation and diagnosis of precocious puberty. *Horm Res Paediatr.* 2012;77(3):137-45.
11. Elks CE, Perry JR, Sulem P, Chasman DI, Franceschini N, He C, et al. Thirty new loci for age at menarche identified by a meta-analysis of genome-wide association studies. *Nat Genet.* 2010;42(12):1077-85.
12. Kaplowitz PB. Link between body fat and the timing of puberty. *Pediatrics.* 2008;121 Suppl 3:S208-17.
13. Parent AS, Teilmann G, Juul A, Skakkebaek NE, Toppari J, Bourguignon JP. The timing of normal puberty and the age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends, and changes after migration. *Endocr Rev.* 2003;24(5):668-93.
14. Soriano-Guillén L, Corripio R, Labarta JI, Cañete R, Castro-Feijóo L, Espino R, et al. Central precocious puberty in children living in Spain: incidence, prevalence, and influence of adoption and immigration. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(9):4305-13.
15. Lakshman R, Forouhi NG, Sharp SJ, Luben R, Bingham SA, Khaw KT, et al. Early age at menarche associated with cardiovascular disease and mortality. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(12):4953-60.
16. 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(4):e752-62.
17. Breyer P, Haider A, Pescovitz OH. Gonadotropin-releasing hormone agonists in the treatment of girls with central precocious puberty. *Clin Obstet Gynecol.* 1993;36(3):764-72.

18. Lahlou N, Carel JC, Chaussain JL, Roger M. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of GnRH agonists: clinical implications in pediatrics. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2000;13 Suppl 1:723-37.
19. Lee JW, Kim HJ, Choe YM, Kang HS, Kim SK, Jun YH, et al. Significant adverse reactions to long-acting gonadotropin-releasing hormone agonists for the treatment of central precocious puberty and early onset puberty. *Ann Pediatr Endocrinol Metab.* 2014;19(3):135-40.
20. Fujisaki A, Kondo Y, Goto K, Morita T. Life-threatening anaphylaxis to leuporelin acetate depot: case report and review of the literature. *Int J Urol.* 2012;19(1):81-4.
21. Carel JC, Lahlou N, Roger M, Chaussain JL. Precocious puberty and statural growth. *Hum Reprod Update.* 2004;10(2):135-47.
22. Bertelloni S, Mul D. Treatment of central precocious puberty by GnRH analogs: long-term outcome in men. *Asian J Androl.* 2008;10(4):525-34.
23. Liu S, Liu Q, Cheng X, Luo Y, Wen Y. Effects and safety of combination therapy with gonadotropin-releasing hormone analogue and growth hormone in girls with idiopathic central precocious puberty: a meta-analysis. *J Endocrinol Invest.* 2016;39(10):1167-78.
24. Antoniazzi F, Zamboni G. Central precocious puberty: current treatment options. *Paediatr Drugs.* 2004;6(4):211-31.
25. Klein K, Yang J, Aisenberg J, Wright N, Kaplowitz P, Lahlou N, et al. Efficacy and safety of triptorelin 6-month formulation in patients with central precocious puberty. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2016;29(11):1241-8.
26. Lee PA, Klein K, Mauras N, Lev-Vaisler T, Bacher P. 36-month treatment experience of two doses of leuprolide acetate 3-month depot for children with central precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(9):3153-9.
27. Lewis KA, Goldyn AK, West KW, Eugster EA. A single histrelin implant is effective for 2 years for treatment of central precocious puberty. *J Pediatr.* 2013;163(4):1214-6.
28. Eugster EA. Experience with the Histrelin Implant in Pediatric Patients. *Endocr Dev.* 2016;30:54-9.
29. Bertelloni S, Baroncelli GI. Current pharmacotherapy of central precocious puberty by GnRH analogs: certainties and uncertainties. *Expert Opin Pharmacother.* 2013;14(12):1627-39.
30. Brito VN, Spinola-Castro AM, Kochi C, Kopacek C, Silva PC, Guerra-Júnior G. Central precocious puberty: revisiting the diagnosis and therapeutic management. *Arch Endocrinol Metab.* 2016;60(2):163-72.
31. Lazar L, Phillip M. Pubertal disorders and bone maturation. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2012;41(4):805-25.
32. Guaraldi F, Beccuti G, Gori D, Ghizzoni L. MANAGEMENT OF ENDOCRINE DISEASE: Long-term outcomes of the treatment of central precocious puberty. *Eur J Endocrinol.* 2016;174(3):R79-87.
33. Carel JC, Roger M, Ispas S, Tondu F, Lahlou N, Blumberg J, et al. Final height after long-term treatment with triptorelin slow release for central precocious puberty: importance of statural growth after interruption of treatment. French study group of Decapeptyl in Precocious Puberty. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(6):1973-8.
34. Pasquino AM, Pucarelli I, Accardo F, Demiraj V, Segni M, Di Nardo R. Long-term observation of 87 girls with idiopathic central precocious puberty treated with gonadotropin-releasing hormone analogs: impact on adult height, body mass index, bone mineral content, and reproductive function. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(1):190-5.
35. Bertelloni S, Baroncelli GI, Sorrentino MC, Perri G, Saggese G. Effect of central precocious puberty and gonadotropin-releasing hormone analogue treatment on peak bone mass and final height in females. *Eur J Pediatr.* 1998;157(5):363-7.
36. Galluzzi F, Salti R, Bindi G, Pasquini E, La Causa C. Adult height comparison between boys and girls with precocious puberty after long-term gonadotrophin-releasing hormone analogue therapy. *Acta Paediatr.* 1998;87(5):521-7.
37. Arrigo T, Cisternino M, Galluzzi F, Bertelloni S, Pasquino AM, Antoniazzi F, et al. Analysis of the factors affecting auxological response to GnRH agonist treatment and final height outcome in girls with idiopathic central precocious puberty. *Eur J Endocrinol.* 1999;141(2):140-4.
38. Kauli R, Galatzer A, Kornreich L, Lazar L, Pertzelan A, Laron Z. Final height of girls with central precocious puberty, untreated versus trea-

- ted with cyproterone acetate or GnRH analogue. A comparative study with re-evaluation of predictions by the Bayley-Pinnaeu method. *Horm Res.* 1997;47(2):54-61.
39. Corripio R, Soriano-Guillén L, Herrero FJ, Cañete R, Castro-Feijoó L, Escribano A, et al. Changes in Body Mass Index in Girls with Idiopathic Central Precocious Puberty under Gonadotropin-Releasing Hormone Analogue Therapy: The Spanish Registry. *Horm Res Paediatr.* 2016.
40. Wolters B, Lass N, Reinehr T. Treatment with gonadotropin-releasing hormone analogues: different impact on body weight in normal-weight and overweight children. *Horm Res Paediatr.* 2012;78(5-6):304-11.
41. Arrigo T, De Luca F, Antoniazzi F, Galluzzi F, Segni M, Rosano M, et al. Reduction of baseline body mass index under gonadotropin-suppressive therapy in girls with idiopathic precocious puberty. *Eur J Endocrinol.* 2004;150(4):533-7.
42. Lee SJ, Yang EM, Seo JY, Kim CJ. Effects of gonadotropin-releasing hormone agonist therapy on body mass index and height in girls with central precocious puberty. *Chonnam Med J.* 2012;48(1):27-31.
43. Feuillan PP, Jones JV, Barnes K, Oerter-Klein K, Cutler GB. Reproductive axis after discontinuation of gonadotropin-releasing hormone analog treatment of girls with precocious puberty: long term follow-up comparing girls with hypothalamic hamartoma to those with idiopathic precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(1):44-9.
44. Palmert MR, Mansfield MJ, Crowley WF, Crigler JF, Crawford JD, Boepple PA. Is obesity an outcome of gonadotropin-releasing hormone agonist administration? Analysis of growth and body composition in 110 patients with central precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(12):4480-8.
45. Lazar L, Padoa A, Phillip M. Growth pattern and final height after cessation of gonadotropin-suppressive therapy in girls with central sexual precocity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(9):3483-9.
46. van der Sluis IM, Boot AM, Krenning EP, Drop SL, de Muinck Keizer-Schrama SM. Longitudinal follow-up of bone density and body composition in children with precocious or early puberty before, during and after cessation of GnRH agonist therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(2):506-12.
47. Lazar L, Meyerovitch J, de Vries L, Phillip M, Lebenthal Y. Treated and untreated women with idiopathic precocious puberty: long-term follow-up and reproductive outcome between the third and fifth decades. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2014;80(4):570-6.
48. Nam HK, Kim HR, Rhie YJ, Lee KH. Serum Anti-Müllerian Hormone Levels in Precocious Puberty Girls according to Stage of GnRH Agonist Treatment. *J Korean Med Sci.* 2017;32(3):475-9.
49. Lazar L, Lebenthal Y, Yackobovitch-Gavan M, Shalitin S, de Vries L, Phillip M, et al. Treated and untreated women with idiopathic precocious puberty: BMI evolution, metabolic outcome, and general health between third and fifth decades. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(4):1445-51.
50. Kim YJ, Lee HS, Lee YJ, Lim JS, Kim SY, Kim EY, et al. Multicenter clinical trial of leuprolide acetate depot (Luphere depot 3.75 mg) for efficacy and safety in girls with central precocious puberty. *Ann Pediatr Endocrinol Metab.* 2013;18(4):173-8.

Casos clínicos de pubertad

Pubertal case reports

Paula Sol Ventura Wichner¹, Francisco J Herrero Espinet²

¹Fundació Hospital de Nens. Barcelona

²Corporació de Salut del Maresme i la Selva.. Calella, Barcelona

CASO CLÍNICO 1

Motivo de consulta

Niño de 8 años y 4 meses en seguimiento por antecedente de hipotiroidismo transitorio.

Anamnesis y examen físico

Paciente varón nacido fruto de un embarazo no controlado, cesárea judicial a las 36 semanas, madre biológica HIV y hepatitis B positiva, adicta a heroína en tratamiento con metadona y probablemente consumidora crónica de alcohol durante el embarazo. Adoptado a los 16 meses de vida. Controlado esporádicamente en el Servicio de Endocrinología Pediátrica por el antecedente de hipotiroidismo neonatal transitorio motivo por el que recibió tratamiento con L-tiroxina hasta los 5 años. Talla estable sobre percentil 3 (talla genética desconocida). A los 8 años y 4 meses comienza con los primeros signos de desarrollo puberal (testículos de 4 ml de Prader, P2, Aa), altura de 122 cm (-2 SDS), IMC 21 (+1,3 SDS) y una velocidad de crecimiento de 4,2 cm/año (-1,8 SDS), sin otros hallazgos de interés.

CASO CLÍNICO 2

Motivo de consulta

Niño de 9 años remitido a la consulta por estancamiento estatural e inicio de caracteres sexuales secundarios.

Correspondencia:

Paula Sol Ventura Wichner
Fundació Hospital de Nens, Barcelona
E-mail: paulasolventura@hotmail.com

Anamnesis y examen físico

Recién nacido a término, peso adecuado para edad gestacional producto de un embarazo controlado. Hijo de madre diabética y padre sano con talla genética de 190,7 cm (> p97). Acude al Servicio de Endocrinología Pediátrica a los 9 años por presentar estancamiento estatural desde los 7 años de edad, habiendo mantenido un crecimiento en p50 de talla hasta los 6 años de edad. Por otra parte, refiere inicio de caracteres sexuales secundarios. Niño con función cognitiva normal y muy buen rendimiento escolar. Al examen físico se observan signos de inicio de desarrollo puberal (testes en bolsas de 4 ml de Prader, P2, Aa) altura de 126 cm (-1,8 SDS), IMC 19 (0,4 SDS), velocidad de crecimiento de 0,6 cm/año (-6,8 SDS).

CASO CLÍNICO 3

Motivo de consulta

Niña de 6 años y 3 meses remitida a la consulta por pubarquia de un año de evolución.

Anamnesis y examen físico

Recién nacida pretérmino (36 semanas), pequeña para edad gestacional, con peso al nacer 1.560 g (-2,4 SDS) y longitud al nacer de 41 cm (-2,7 SDS), producto de un embarazo controlado. Hijo de padres sanos con talla genética de 164 cm (p50-75). Acude al Servicio de Endocrinología Pediátrica a los 6 años y 3 meses por presentar pubarquia desde los 5 años y medio de edad, sin axilarquia ni incremento del olor corporal. Talla estable sobre p25 hasta el momento de la primera consulta. Al examen físico se observa pubarquia (P2), no se eviden-

cia telarquia (S1), altura de 115 cm (-0,6 SDS), IMC 15 (-0,5 SDS), velocidad de crecimiento de 4 cm/año (-2,5 SDS).

CASO CLÍNICO 4

Motivo de consulta

Niño de 5 años que consulta por aumento de velocidad de crecimiento.

Anamnesis y examen físico

Hijo de padres sanos no consanguíneos. Talla diana de 186,5 cm (> p97). Fruto de un embarazo controlado, con sospecha por ecografía de cuadro malformativo (agenesia de cuerpo calloso y ectasia piélica detectados prenatalmente). Parto a término y eutócico. PRN: 3.380 g; LRN: 54,5 cm; PC: 35,5 cm. Ingreso en Unidad Neonatal para estudio de cuadro sindrómico. Cariotipo: 47,XY +8[16]/46,XY [34]. Crisis convulsivas en periodo neonatal con buena evolución posterior. Opacidad corneal congénita, siringomielia y escoliosis. Intervenido a los 3 años y medio de hernia inguinal derecha asociada a criptorquidia ipsilateral y galactoceles derecho. Intervenido unos meses después de galactocelo izquierdo. En un control clínico realizado a los 5 años y 3 meses de edad se aprecia aumento notable de velocidad de crecimiento. Su talla es de 117,7 cm (+1,16 SDS) y su velocidad de crecimiento desde el anterior control clínico de 10,8 cm/año (+4,17 SDS).

CASO CLÍNICO 5

Motivo de consulta

Niña de siete meses que consulta por telarquia y episodio de sangrado vaginal.

Anamnesis y examen físico

Lactante de sexo femenino de 7 meses y 25 días, hija de padres sanos. Abuela paterna afecta de enfermedad de Graves Basedow. Fruto de una gestación controlada. Parto inducido a las 40 semanas por sospecha de pérdida de bienestar fetal. PRN

2.760 g (-1,4 SDS), LRN 48 cm (-1,09 SDS). APGAR 8/9. Periodo perinatal normal. Sin otros antecedentes de interés. En la revisión de los 7 meses de edad refieren aparición reciente de telarquia y presencia de vello pubiano incipiente junto con un episodio de sangrado vaginal aislado. Longitud de 72,5 cm (+1,43 SDS) y velocidad de crecimiento de 30,6 cm/año (+ 12,8 SDS). Presenta a la inspección telarquia bilateral, sin signos de sangrado vaginal activo.

CASO CLÍNICO 6

Motivo de consulta

Adolescente de 17 años que consulta por retraso en la aparición de caracteres sexuales secundarios.

Anamnesis y examen físico

Hijo de padres sanos. Talla diana de 173,9 cm (-0,55 SDS). Padre madurador tardío. Resto de antecedentes familiares sin interés clínico. Gestación de curso normal. Parto a término con presentación de nalgas, sin otras incidencias perinatales. Mastoiditis que requirió cirugía al año de edad. Su médico de cabecera lo remite a la consulta por ausencia de desarrollo puberal. En la primera evaluación, con una edad de 17 años 2 meses, presenta una talla de 165,5 cm (-1,39 SDS), un peso de 48,4 kg (- 1,76 SDS) y un IMC de 17,7 (-1,5 SDS). No presenta dismorfias, no se evidencia bocio y se objetiva un estadio puberal Tanner I: testículos en bolsas de 3 ml de Prader, P2, Aa.

CONSENTIMIENTO

Los padres o tutores de los pacientes han dado su consentimiento informado para la presentación de los casos como publicaciones y actividad docente.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no presentan ningún conflicto de intereses en relación con esta presentación.