

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, Mendonça 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, Mendonça 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.