CAROLINA DE OLIVEIRA RAMOS

**Avaliação de pacientes com puberdade precoce
central após o tratamento com análogos de GnRH:
aspectos antropométricos, metabólicos,
reprodutivos e psicossociais**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção
de título de Doutor em Ciências

Programa de Endocrinologia

Orientador: Prof. Dr. Vinicius Nahime de Brito

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 5890, de 27 de março de 2020.
A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

São Paulo

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Ramos, Carolina de Oliveira

Avaliação de pacientes com puberdade precoce
central após o tratamento com análogos de GnRH :
aspectos antropométricos, metabólicos, reprodutivos
e psicossociais / Carolina de Oliveira Ramos. --
São Paulo, 2019.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Endocrinologia.

Orientador: Vinicius Nahime de Brito.

Descritores: 1.Puberdade precoce 2.MKRN3 3.DLK1
4.Hamartoma hipotalâmico 5.aGnRH 6.Altura corporal
7.Composição corporal 8.Função reprodutiva 9.Efeitos
psicossociais da doença

USP/FM/DBD-439/19

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Este trabalho foi desenvolvido na Unidade de Endocrinologia do Desenvolvimento, Laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM/42, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Dedicatória

A meus filhos, **Pedro e Marina**,
a meu marido, **Fábio Arimura**,
a meus pais, **Mirian e Walter**, e
a meu irmão, **Guilherme**.

Agradecimentos

O meu agradecimento vai para todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta tese.

A meus filhos Pedro e Marina, grandes amores da minha vida, que passaram a ser minha maior motivação para cada passo dado e me acompanharam dentro e fora da barriga durante todo esse período, contribuindo da forma deles para a realização deste trabalho. A meu marido, Fábio, grande parceiro e companheiro nessa jornada, apoiando-me sempre. A minha mãe, fonte de inspiração, força e dedicação, fundamental para meu crescimento pessoal e profissional em cada momento de minha vida. A meu pai Walter, pelo apoio e incentivo constante. A meu irmão, minha dupla, sempre a meu lado, apoio incondicional!

A meu orientador Dr. Vinicius Nahime Brito, por ter me guiado na construção desta pesquisa, com tanto comprometimento, competência, carinho e dedicação, entendendo cada momento por que passei nos últimos quatro anos, capaz de me estimular e inspirar. Obrigada pela grande parceria!

À Dra. Ana Claudia Latronico, por todo o apoio e contribuição, mostrando-me sempre a pesquisa com otimismo e entusiasmo que contagiam quem está a seu lado.

À Dra. Berenice Mendonça, pelo carinho, acolhimento, dedicação, disciplina e liderança com que conduz todo o grupo, tornando este ambiente de excelência, propiciando pesquisas de qualidade no Departamento de Endocrinologia, fundamental para o desenvolvimento da pesquisa em nosso país.

Aos amigos pós-graduandos do grupo de pesquisas, Marina Cunha, Delaine B. Macedo, Daniele Bessa, Ana Pinheiro Canton, Priscilla Cukier, Carlos Eduardo Seraphim e Guido Colares Neto, que participaram de forma muito importante para a realização desta pesquisa, não só pelo suporte científico como também pelo apoio no dia a dia, congressos e torcida. Foi muito prazeroso tê-los comigo nessa jornada!

Às todas minhas amigas da pediatria, principalmente a Juliana Zoboli, Carolina Aquino e Livia Cunha e minhas amigas de infância, pela amizade, apoio e torcida.

À Dra. Teresa Cristina Alfinito Vieira, grande incentivadora e minha inspiração profissional, deu-me o suporte para crescer na Endocrinologia pediátrica!

Aos funcionários do Departamento da Endocrinologia, do LIM 42, Rosangele, Nilda, Rubens, Roberta, Roseli, Rosana e Cida, pela disponibilidade e suporte sempre que precisei.

À Dra. Larissa Gomes, Dr. Alexsander Augusto L. Jorge, Dr. Ivo Jorge P. Arnhold, Dra. Tania Bachega, pelos conhecimentos transmitidos, pelas discussões científicas e o saber compartilhado.

A nossos colaboradores nacionais, Prof. Sonir Antonini e Dra. Tania Rodrigues, por compartilharem seus pacientes para que os estudos fossem realizados.

A toda a minha família (biológica e do coração), avós, tios, primos e sogros, por apoiarem meus projetos pessoais e profissionais com tanto amor!

Aos pacientes e familiares que nos permitiram desenvolver esta pesquisa pois, sem sua colaboração, este estudo não se concretizaria.

Normalização

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação.

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª Ed. São Paulo: Serviços de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Epígrafe

"As grandes ideias surgem da observação dos
pequenos detalhes."

Augusto Cury

Sumário

Lista de abreviaturas	xi
Lista de figuras	xiii
Lista de tabelas	xiv
Resumo	xvi
Abstract	xviii
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Desenvolvimento puberal normal	2
1.2 Puberdade precoce central	3
1.3 Tratamento da puberdade precoce central.....	7
1.4 Efeitos do tratamento da PPC com aGnRH na vida adulta.....	9
1.5 Justificativa	13
2 OBJETIVOS	14
3 PACIENTES E MÉTODOS	16
3.1 Pacientes.....	17
3.2 Avaliação clínica	21
3.3 Avaliação laboratorial	24
3.4 Avaliação genética	25
3.5 Avaliação de imagem	26
3.5 Questionário psicossocial	27
3.6 Análise estatística.....	29
4 RESULTADOS.....	31
4.1 Dados clínicos e hormonais dos pacientes com PPC idiopática e PPC causada por mutação no <i>MKRN3</i>	32
4.1.1 Dados clínicos e laboratoriais ao diagnóstico	32
4.1.2 Dados clínicos e hormonais no final do tratamento com aGnRH	35
4.1.3 Dados antropométricos, metabólicos e reprodutivos na altura final	37
4.1.3.1 Aspectos antropométricos	37

4.1.3.2	Correlações entre altura final e variáveis nas pacientes com PPCI tratadas com aGnRH	42
4.1.3.3	Aspectos metabólicos	44
4.1.3.4	Aspectos reprodutivos	45
4.2	Dados clínicos e hormonais dos pacientes com PPC causada por mutação no <i>DLK1</i>	48
4.3	Dados clínicos e hormonais dos pacientes com mutação ativadora no <i>KISS1</i> e <i>KISS1R</i>	53
4.4	Dados clínicos e hormonais dos pacientes com PPC causada por hamartoma hipotalâmico (PPC-HH)	54
4.4.1	Dados clínicos e hormonais ao diagnóstico	54
4.4.2	Dados clínicos e hormonais no final do tratamento com aGnRH	56
4.4.3	Dados clínicos e hormonais na altura final	57
4.4.3.1	Aspectos antropométricos	57
4.4.3.2	Avaliação neurológica dos pacientes com PPC- HH na vida adulta.....	61
4.4.3.3	Aspectos metabólicos	61
4.4.3.4	Aspectos reprodutivos	61
4.5	Comparação dos parâmetros antropométricos, metabólicos e reprodutivos entre pacientes tratados com análogos de GnRH de uso mensal e trimestral	64
4.6	Aspectos psicossociais de pacientes com PPC tratados com aGnRH	68
5	DISCUSSÃO	70
5.1	Altura final	74
5.2	IMC, percentual de gordura corporal e avaliação metabólica.....	77
5.3	Função reprodutiva e síndrome do ovário policístico	81
5.4	Aspectos psicossociais.....	86
6	CONCLUSÕES	89
7	ANEXOS	92
8	REFERÊNCIAS.....	117
9	APÊNDICES (artigos publicados)	131

Listas

ABREVIATURAS

AA	Altura alvo
AF	Altura final
aGnRH	Análogo do hormônio liberador de gonadotrofinas
DEXA	<i>Dual-energy x-ray absorptiometry</i>
DHEA-S	Dehidroepiandrosterona-sulfato
DLK1	<i>Gene Delta-Like 1 Homolog</i> (Drosophila)
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio-padrão
ECLIA	Eletroquimioluminescência
FSH	Hormônio folículo-estimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
GPR54	Gene que codifica o receptor acoplado à proteína G – 54
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HH	Hamartoma hipotalâmico
IC	Idade cronológica
ICMA	Quimioluminescência
IFMA	Ensaio imunofluorométrico
IMC	Índice de massa corporal
IO	Idade óssea
KISS1	Gene que codifica a kisspeptina
KISS1R	Gene que codifica o receptor da kisspeptina
LC-MS/MS	Cromatografia líquida seguida de espectrometria de massas
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LH	Hormônio luteinizante
MKRN3	Gene que codifica a proteína <i>makorin ring finger 3</i>

PIG	Pequeno para idade gestacional
PPC	Puberdade precoce central
PPP	Puberdade precoce periférica
RIE	Ensaio de radioimunoensaio
RM	Ressonância magnética
SHBG	Globulina de ligação de hormônios sexuais
SNC	Sistema nervoso central
SOP	Síndrome do ovário policístico
VR	Valor de referência

FIGURAS

Figura 1 -	Fluxograma da casuística com todos os pacientes avaliados.....	20
Figura 2 -	Ressonância magnética (corte sagital) de região hipotálamo-hipofisária revelando A: cisterna supraselar livre (normal), B e C: massa isointensa entre o infundíbulo e os corpos mamilares, sem realce após contraste, sugestiva de hamartoma hipotalâmico.....	27
Figura 3 -	Fluxograma das investigação clínica e laboratorial dos pacientes selecionados para este estudo	29
Figura 4 -	Altura alvo e altura final do grupo de pacientes com PPCI tratados com aGnRH	37
Figura 5 -	Evolução longitudinal de acordo com a categoria de peso corporal (normal/ sobrepeso e obesidade) do grupo de PPCI tratadas com aGnRH.....	38
Figura 6 -	Altura final e altura alvo do grupo de pacientes com PPC devido à mutação no gene <i>MKRN3</i> tratados com aGnRH.....	39
Figura 7 -	Evolução longitudinal de acordo com a categoria de peso corporal (normal/ sobrepeso/ obesidade) do grupo de pacientes com PPC causada por mutação no <i>MKRN3</i> tratados com aGnRH	40
Figura 8 -	Altura alvo e altura final do grupo de pacientes com PPC causada por mutação no gene <i>DLK1</i> tratados com aGnRH ...	49
Figura 9 -	Evolução longitudinal de acordo com a categoria de peso corporal (normal, sobrepeso e obesidade) do grupo de pacientes com PPC por mutação no <i>DLK1</i> tratados com aGnRH.....	50
Figura 10 -	Altura alvo e altura final das mulheres e homens no grupo de pacientes com PPC causada pelo HH tratados com aGnRH ($p > 0,05$).....	58
Figura 11 -	Evolução longitudinal de acordo com a categoria de peso corporal (normal, sobrepeso e obesidade) do grupo de mulheres com PPC-HH tratadas com aGnRH	59
Figura 12 -	Evolução longitudinal de acordo com a categoria de peso corporal (normal, sobrepeso e obesidade) do grupo de homens com PPC-HH tratados com aGnRH	59

TABELAS

Tabela 1 -	Etiologia da puberdade precoce central.....	7
Tabela 2 -	Critérios diagnósticos de síndrome do ovário policístico.....	24
Tabela 3 -	Dados clínicos e hormonais dos pacientes com PPC de causa idiopática (PPCI) e PPC causada por mutação no <i>MKRN3</i> ao diagnóstico	34
Tabela 4 -	Dados clínicos dos pacientes com PPC de causa idiopática (PPCI) e PPC causada por mutação no <i>MKRN3</i> ao final do tratamento com aGnRH.....	36
Tabela 5 -	Dados clínicos dos pacientes com PPC de causa idiopática (PPCI) e PPC causada por mutação no <i>MKRN3</i> na altura final	41
Tabela 6 -	Fatores associados à altura final (cm) em meninas com PPCI tratadas com aGnRH.....	42
Tabela 7 -	Fatores associados à altura final (cm) em meninas com PPC causada por mutação no <i>MKRN3</i> tratadas com aGnRH.....	43
Tabela 8 -	Dados hormonais e metabólicos dos pacientes com PPC de causa idiopática (PPCI) e PPC causada por mutação no <i>MKRN3</i> na altura final	46
Tabela 9 -	Valores de referência para os dados hormonais e metabólicos na vida adulta	47
Tabela 10 -	Dados clínicos e hormonais das pacientes com PPC causada por mutação no <i>DLK1</i> ao diagnóstico, final do tratamento com aGnRH e na altura final.....	52
Tabela 11 -	Dados clínicos e hormonais ao diagnóstico dos pacientes com PPC causada pelo hamartoma hipotalâmico (PPC-HH).....	55
Tabela 12 -	Dados clínicos dos pacientes com PPC causada por HH (PPC-HH) no final do tratamento com aGnRH	56
Tabela 13 -	Dados clínicos dos pacientes com PPC causada por HH (PPC-HH) na altura final	60
Tabela 14 -	Dados hormonais e metabólicos dos pacientes com PPC-HH na altura final	63

Tabela 15 - Comparação entre os dados dos pacientes com PPC tratados com a formulação mensal (3,75 mg) e trimestral (11,25 mg) do aGnRH ao diagnóstico, no final do tratamento e na vida adulta.....	67
---	----

Resumo

Ramos CO. *Avaliação de pacientes com puberdade precoce central após o tratamento com análogos de GnRH: aspectos antropométricos, metabólicos, reprodutivos e psicossociais* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo: 2019.

A puberdade precoce central (PPC) resulta da reativação prematura (antes dos oito anos nas meninas e dos nove anos nos meninos) do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal e pode ser decorrente de lesões orgânicas no sistema nervoso central, de defeitos genéticos, ou classificada como idiopática (PPCI), quando a causa não é conhecida. A PPCI representa a maioria dos casos, principalmente no sexo feminino. As mutações inativadoras no *MKRN3* representam a causa genética mais comum de PPC familiar. Hamartoma hipotalâmico é a causa orgânica mais conhecida de PPC em ambos os sexos. Os análogos de GnRH de ação prolongada (aGnRH) são o tratamento de escolha da PPC. Embora diversos estudos tenham reportado os efeitos do tratamento da PPCI com aGnRH, há escassez de dados de pacientes com PPC causada pelo HH (PPC-HH) e não há relatos sobre os pacientes com PPC de causa genética após tratamento com aGnRH. Os objetivos deste estudo foram avaliar os parâmetros antropométricos, metabólicos, reprodutivos e psicossociais de pacientes com PPCI, PPC genética e PPC-HH após o tratamento com aGnRH. Trata-se de um estudo multicêntrico, retrospectivo e longitudinal de uma coorte de 92 pacientes, 43 PPCI (43 F), 35 PPC genética (34 F: 1 M) e 14 PPC-HH (7 F: 7 M), sendo o grupo PPC genética composto por 29 (F) pacientes com mutação no *MKRN3*, 4 (F) pacientes com mutação no *DLK1*, 1 (F) paciente com mutação ativadora no *KISS1* e 1 (M) paciente com mutação ativadora no *KISS1R*. Todos os pacientes foram tratados exclusivamente com aGnRH de uso mensal ou trimestral. Setenta e um pacientes [43 PPCI (43 F), 17 PPC genética (16 F: 1 M) e 11 PPC-HH (5 F: 6 M)] atingiram a altura final (AF) e foram submetidos a avaliações clínicas, laboratoriais, de imagem e aplicação de um questionário psicossocial. Todas as pacientes, exceto uma, do grupo PPCI, e uma do grupo PPC causada por mutação no *MKRN3* atingiram AF normal [$161,4 \text{ cm} \pm 6,6 \text{ cm}$ (DP: $-0,2 \pm 1,1$) e $157,6 \text{ cm} \pm 5,1 \text{ cm}$ (DP: $-0,7 \pm 0,9$), respectivamente], dentro do intervalo da altura alvo (AA). A prevalência de sobrepeso e obesidade na AF foi 33,4% e 27,2% nos grupos PPCI e PPC causada por mutação no *MKRN3*, respectivamente. Não houve diferença na prevalência de distúrbios metabólicos entre os grupos. O intervalo médio entre a suspensão do tratamento com aGnRH e a ocorrência da menarca foi $1,1 \text{ ano} \pm 0,5 \text{ ano}$ e $0,9 \text{ ano} \pm 0,7 \text{ ano}$ nos grupos PPCI e PPC causada por mutação no *MKRN3*, respectivamente. A prevalência de síndrome dos ovários policísticos (SOP) foi semelhante nos dois grupos (5,9% vs. 9,1%; $p > 0,05$). No subgrupo de pacientes com PPC causada por mutação no *DLK1*, três de quatro pacientes

apresentaram AF dentro do intervalo da AA. A prevalência de sobrepeso e obesidade foi 50%, três quartos das pacientes apresentavam resistência insulínica e dislipidemia. O intervalo entre a suspensão do tratamento com aGnRH e a menarca foi $0,5 \text{ ano} \pm 0,2 \text{ ano}$. Além disso, todas as pacientes referiram ciclos menstruais regulares, sem preencher os critérios para diagnóstico de SOP. No grupo PPC-HH, 11 dos 14 pacientes atingiram a altura final normal, $174,5 \text{ cm} \pm 6,9 \text{ cm}$ (DP: $0 \pm 0,8$) nos homens e $162,5 \text{ cm} \pm 5 \text{ cm}$ (DP: $0 \pm 0,9$) nas mulheres, todos dentro do intervalo da AA. Os três pacientes que não atingiram a AF apresentavam previsão de AF dentro do intervalo da AA. A média do IMC e o percentual de massa gorda corporal foram significativamente maiores no sexo feminino ($31\% \pm 5,4\%$ e $39,3\% \pm 4,3\%$ nas mulheres e $20,7\% \pm 1,9\%$ e $8,5\% \pm 4,5\%$ nos homens, respectivamente), com maior prevalência de distúrbios metabólicos (hipercolesterolemia e resistência insulínica) nas mulheres. Todos os pacientes apresentaram função gonadal normal na idade adulta. A formulação do aGnRH, de uso mensal ou trimestral, não influenciou os desfechos após o tratamento. Trinta e sete pacientes com PPC preencheram o questionário psicossocial que revelou uso de álcool em 40,1%, tabaco em 3,7% e drogas ilícitas em 3,7%. A média da idade da primeira relação sexual no sexo feminino foi 15,8 anos e no sexo masculino foi 15,5 anos. Concluímos que (i) o tratamento de pacientes com PPC de todas as etiologias com aGnRH se mostrou efetivo e seguro, resultando na preservação do potencial genético de altura final; (ii) houve redução do percentual de sobrepeso e obesidade e baixa prevalência de alterações metabólicas e síndrome dos ovários policísticos nesta coorte de pacientes com PPCI e PPC causada por mutação no *MKRN3* após o tratamento com aGnRH, sugerindo que o defeito genético não tenha influenciado os parâmetros antropométricos, metabólicos e reprodutivos; (iii) o subgrupo com PPC causada por mutação no *DLK1* apresentou maior prevalência de sobrepeso e obesidade e de gordura corporal com maior prevalência de alterações metabólicas; (iv) as pacientes do sexo feminino com PPC-HH apresentaram parâmetros antropométricos e metabólicos desfavoráveis, com maior prevalência de sobrepeso, aumento de gordura corporal e dislipidemia; (v) a função reprodutiva foi preservada em todos os grupos etiológicos, indicando que o bloqueio puberal é transitório e reversível; (vi) os desfechos psicossociais foram semelhantes nos pacientes com PPC tratados com aGnRH em relação à população geral.

Descritores: Puberdade precoce, MKRN3, DLK1, Hamartoma hipotalâmico, aGnRH, Altura corporal, Composição corporal, Função reprodutiva, Efeitos psicossociais da doença

Abstract

Ramos CO. *Evaluation of patients with central precocious puberty after treatment with GnRH analogs: anthropometric, metabolic, reproductive and psychosocial aspects* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2019.

Central precocious puberty (CPP) results from the premature reactivation (before the age of 8 in girls and 9 in boys) of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis and can be due to organic lesions of the central nervous system, genetic defects or classified as idiopathic (ICPP). Inactivating mutations of the *MKRN3* gene are the most common cause of genetic CPP. Hypothalamic hamartoma (HH) is the most known organic cause CPP in both sexes. Long-term GnRH analogs (GnRHa) are the treatment of choice for CPP. Although many studies reported the effects of ICPP treatment, there are a paucity of data mainly in CPP-HH and no report of patients with genetic CPP after treatment with GnRHa. The objective of this study was to evaluate anthropometric, metabolic, reproductive and psychosocial parameters of patients with ICPP, genetic CPP and CPP-HH after treatment with GnRHa. This is retrospective longitudinal and multicenter study including a cohort of 92 patients, 43 females ICPP patients, 35 genetic CPP (34 F: 1 M), and 14 CPP-HH (7 F : 7 M). The CPP due to genetic mutations group was composed of 29 patients with inactivating *MKRN3* mutations, 4 (F) patients with inactivating *DLK1* mutations, one (F) patient with activating *KISS1* mutation, and one (M) with *KISS1R* activating mutation. All patients were treated exclusively with long-acting GnRHa, monthly or 3-monthly dosage. Seventy-one patients [43 ICPP (43 F), 17 genetic CPP (16 F: 1M) and 11 CPP-HH (5 F: 6 M)] reached their final height (FH) and underwent to clinical, laboratory, imaging and psychosocial evaluations. All but one ICPP and one CPP due to *MKRN3* mutation patients reached normal FH [161.4 ± 6.6 cm (SD -0.2 ± 1.1) and 157.6 ± 5.1 cm (SD: -0.7 ± 0.9), respectively), within target height (TH) interval. The prevalence of overweight and obesity at FH was 33.4% and 27.2% in the groups ICPP and CPP due to *MKRN3* mutation, respectively. There was no significant difference in the prevalence of metabolic abnormalities between groups. The mean interval between GnRHa treatment suspension and occurrence of menarche was 1.1 ± 0.5 years and 0.9 ± 0.7 years in the ICPP and CPP due to *MKRN3* mutation groups, respectively. The prevalence of polycystic ovary syndrome (PCOS) was similar in both groups (5.9% vs 9.1%; $p > 0.05$). In the subgroup with CPP due to *DLK1* mutation, 3 out of 4 patients reached FH within TH range. The prevalence of overweight and obesity was 50%, 3 out of 4 of patients had insulin resistance and dyslipidemia. The interval between GnRHa treatment withdraw and menarche was $0.5 - 0.2$ years. Besides that, all patients reported regular menstrual cycles, without fulfilling POS diagnostic criteria. In the CPP-HH group, 11 out of 14 patients reached FH, 174.5 ± 6.9 cm (SD: 0

± 0.8) in males and 162.5 ± 5 cm (SD: 0 ± 0.9) in females, all within TH range. The remaining three patients had predicted height within TH range. The mean body mass index (BMI) and the body fat percentage were significantly higher in the female patients ($31\% \pm 5.4\%$ and $39.3\% \pm 4.3\%$ in females and $20.7\% \pm 1.9\%$ and $8.5\% \pm 4.5\%$ in males, respectively), with a higher prevalence of metabolic abnormalities (hypercholesterolemia and insulin resistance). All patients had a normal gonadal function after GnRHa treatment. One- or 3-month GnRHa formulation did not influence outcomes after treatment. Thirty-seven CPP patients answered the psychosocial questionnaire and alcohol use was reported in 40.1%, tobacco use in 3.7% and illicit drugs use in 3.7%. The mean chronological age of the first sexual intercourse was 15.8 years in females and 15.5 years in males. We concluded that (i) GnRHa was effective and safe in treating CPP of all etiologies, resulting in preservation of genetic potential of final height, (ii) the decrease of overweight and obesity prevalences, and low prevalence of metabolic abnormalities and PCOS in ICPP and CPP due to *MKRN3* mutations groups after treatment with GnRHa, suggested that this genetic defect did not influence in the anthropometric, metabolic and reproductive parameters, (iii) the CPP due to *DLK1* mutations group presented higher prevalence of overweight, obesity and body fat mass, with higher prevalence of metabolic abnormalities, (iv) the females patients with CPP-HH presented unfavorable metabolic parameters, with higher prevalence of overweight, body fat mass and dyslipidemia, (v) the reproductive function was preserved in all CPP groups, indicating that pubertal suppression with GnRHa is transient and reversible and (vi) psychosocial outcomes were similar in treated CPP patients compared to general population.

Descriptors: Precocious puberty, MKRN3, DLK1, hypothalamic hamartoma, GnRHa, final height, body composition, reproductive function, psychosocial aspects

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Desenvolvimento puberal normal

Introdução

A puberdade é o período de transição entre a infância e a vida adulta, caracterizado pelo aparecimento e desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários, maturação gonadal com aquisição da função reprodutiva, crescimento linear acelerado (estirão puberal) e modificações psicológicas relevantes. Trata-se de um processo complexo influenciado por fatores hormonais, genéticos, metabólicos, ambientais e socioeconômicos (1, 2).

Sob ponto de vista hormonal, a puberdade resulta da reativação do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, promovendo a maturação das gônadas, processo denominado gonadarca (1, 3). Os pulsos de GnRH estimulam a síntese e a secreção das gonadotrofinas hipofisárias, hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo-estimulante (FSH), pela hipófise anterior que, ligando-se a seus receptores específicos, estimulam a síntese dos esteroides sexuais pelas gônadas (testosterona pelas células de Leydig testiculares e estradiol pelos folículos ovarianos) e a produção dos gametas maduros em ambos os sexos (1, 3). Os mecanismos regulatórios da secreção de GnRH incluem fatores excitatórios (kisspeptina, glutamato, glicina), inibitórios (ácido gama aminobutírico (GABA), opioides, neuropeptídeo Y) e permissivos (leptina), além de comunicação entre células

neuronal e glial. Novos reguladores da secreção de GnRH foram identificados, destacando as proteínas codificadas pelos genes *makorin-ringer finger* e (*MKRN3*) e *delta-like homolog 1* (*DLK1*) (4, 5).

O aparecimento e desenvolvimento dos pelos pubianos decorre de um processo independente da gonadarca, a adrenarca, caracterizada pela maturação da zona reticular do córtex adrenal e secreção de dehidroepiandrosterona (DHEA) e sulfato de DHEA (DHEA-S) (6).

No sexo feminino, o aparecimento do broto mamário (telarca) e a aceleração do crescimento linear são os primeiros sinais de puberdade, enquanto nos meninos o aumento do volume testicular representa o início da puberdade. Os caracteres sexuais secundários (mamas nas meninas, volume ou tamanho testicular nos meninos e pelos pubianos em ambos os sexos) foram estadiados de 1 a 5 por Marshall & Tanner (7, 8).

A idade cronológica de início da puberdade na população geral é variável e obedece a uma distribuição *Gaussiana*, considerada normal entre 8 anos e 13 anos nas meninas e 9 anos e 14 anos nos meninos (9).

1.2 Puberdade precoce central

Classicamente, a puberdade precoce é definida como o aparecimento dos caracteres sexuais secundários antes dos oito anos nas meninas e dos nove anos nos meninos (10, 11). A menarca antes dos nove anos no sexo feminino também é um critério utilizado para definir puberdade precoce (9). Sob ponto de vista etiológico, a puberdade precoce pode ser central (PPC)

ou periférica (PPP). A PPC decorre da reativação prematura do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, enquanto a PPP decorre da produção autônoma de esteroides sexuais de origem gonadal, adrenal ou uso exógeno (12, 13).

A PPC predomina no sexo feminino e sua incidência é estimada em 1 : 5.000 a 1 : 10.000 na população americana (14). A PPC é classificada em idiopática (ausência de lesões no sistema nervoso central) ou orgânica (presença de lesões congênitas ou adquiridas do SNC). No sexo feminino, cerca de 90% dos casos de PPC são idiopáticos (13). Além disso, os casos de PPC podem ser classificados como esporádicos ou familiares (mais de um indivíduo com PPC na mesma família) (9).

Mutações ativadoras nos genes que codificam a kisspeptina e seu receptor, *KISS1* e *KISS1R*, foram os primeiros defeitos monogênicos identificados em pacientes brasileiros com PPC (15, 16). São causas raras de PPC de origem monogênica.

O estudo de 15 famílias com PPC familiar utilizando a técnica de sequenciamento exômico global permitiu identificar mutações inativadoras no gene imprintado *MKRN3* (*makorin ring finger 3*) em 5/15 (33%) famílias (17). O alelo materno é silenciado e a transmissão se dá exclusivamente pelo alelo paterno (17). A proteína codificada pelo *MKRN3* está envolvida na ubiquitinação de proteínas, apresenta expressão reduzida no início da puberdade de acordo com estudos funcionais realizados em hipotálamo de camundongos e, desta forma, indica o potencial efeito inibitório sobre a secreção de GnRH (17). Diversos estudos identificaram mutação inativadora

no *MKRN3* com frequências distintas, variando de 33% a 46% dos casos estudados (18). Uma metanálise recente avaliou 22 trabalhos de pacientes com PPC por mutação no *MKRN3*, sendo que destes estudos, 89 pacientes (76 meninas) preencheram os critérios de inclusão. Um total de 14 trabalhos avaliando 857 pacientes foram incluídos para análise quantitativa, com uma prevalência geral de mutação de 9,0% (95% CI, 0,04 para 0,15) (19). Desta forma, mutação inativadora no *MKRN3* representa a principal causa monogênica de PPC familiar (17, 20). Posteriormente, foi descrita uma deleção de quatro nucleotídeos (c.-150_-147delTCAG) em heterozigose na região promotora proximal do gene *MKRN3* em uma menina com PPC, indicando que defeitos na região promotora do *MKRN3* está associada à puberdade precoce central (17).

Um defeito genético complexo no gene *DLK1* que inclui a deleção do éxon 1 associada a uma duplicação de uma região do íntron 3 foi descrita em uma família brasileira com PPC familiar, também de herança paterna (5). O mecanismo pelo qual o defeito no *DLK1* resulta em PPC não é conhecido. *DLK1* codifica um fator antiadipogênico, e a perda de função favorece o aparecimento de gordura visceral, resistência insulínica (21). Além disso, fenótipo metabólico desfavorável foi identificado em modelos animais e também em humanos, colocando o *DLK1* como um elo entre o sistema reprodutivo e metabólico (21, 22). É notável que o *MKRN3* e o *DLK1* são genes com *imprinting* materno, sendo de transmissão exclusivamente paterna, colocando desta forma o mecanismo de *imprinting* em papel central na regulação da puberdade humana (5, 23, 24).

O hamartoma hipotalâmico é a causa orgânica mais comum de PPC em ambos os sexos (1, 10) e é uma malformação congênita não neoplásica, composta por massa ectópica de tecido hipotalâmico, localizada em geral próxima ao *tuber* cinéreo ou aos corpos mamilares (24). Os portadores de HH, quando sintomáticos, podem apresentar PPC em 80% dos casos, geralmente de início anterior aos três anos de idade e mais associada aos hamartomas pedunculados e localizados no hipotálamo anterior, enquanto as formas sésseis superiores a 10 mm e localizadas no hipotálamo posterior apresentam maior risco de manifestações neurológicas (epilepsia gelástica, crises focais ou generalizadas, distúrbios cognitivos e comportamentais) (25, 26).

A fisiopatologia molecular e celular que leva ao início prematuro da puberdade nos pacientes portadores de HH não é completamente conhecida (26). As hipóteses para a ocorrência da PPC associada com HH incluem iniciação prematura da secreção pulsátil de GnRH por um tecido adjacente ao hipotálamo, causando pressão física ou influências neuronais do próprio HH. Alternativamente, o HH pode ser um gerador independente de GnRH pulsátil que, por sua vez, estimula diretamente a hipófise anterior (26). A etiologia da PPC está resumida na Tabela 1.

Há evidências epidemiológicas que sugerem a associação entre a PPC e o aumento do risco de obesidade, diabetes tipo 2, hipertensão arterial, doença cardíaca isquêmica, acidente vascular cerebral, câncer estrógeno-dependente, distúrbios psicológicos e comportamentais e mortalidade geral (27–30).

Tabela 1 - Etiologia da PPC *

Com lesões do SNC**- Malformações congênitas**

- Hamartoma hipotalâmico
- Cistos aracnoides supratentoriais
- Hidrocefalia
- Glioma ou neurofibromatose tipo 1
- Esclerose tuberosa
- Displasia septo-óptica
- Malformação Chiari II e mielomeningocele

- Insultos adquiridos

- Tumores: astrocitoma, ependimoma, pinealoma, glioma hipotalâmico ou óptico, craniofaringioma, disgerminoma (não secretor de hCG), meningioma
- Pós-insultos (perinatal, trauma de infecção, radioterapia)
- Doença granulomatosa
- Paralisia cerebral

Sem lesões do SNC

- Idiopática
- Desreguladores endócrinos
- Adoção internacional
- Exposição prévia a esteroides sexuais (puberdade precoce central secundária)

- Causas genéticas:

- Mutações ativadoras nos genes que codificam a kisspeptina (*KISS1*) e o receptor da kisspeptina (*KISS1R* - anteriormente chamado *GPR54*)
- Mutação inativadora no gene que codifica a proteína *makorin ring finger 3* (*MKRN3*) e mutação na região promotora do gene *MKRN3*
- Mutação inativadora no gene *DLK1*

- Anormalidades cromossômicas

* (5, 9, 24)

1.3 Tratamento da puberdade precoce central

O tratamento de escolha da PPC são os análogos agonistas de GnRH (aGnRH) de ação prolongada (*depot*), peptídeos sintéticos que se ligam de

forma estável e duradoura ao receptor hipofisário de GnRH, competindo com o GnRH endógeno, e são mais resistentes à degradação pelas proteases, com consequente aumento da meia-vida (31). Estes análogos, de forma competitiva, promovem um efeito de *down-regulation* (redução no número de receptores do GnRH). No Brasil, os aGnRH são disponíveis comercialmente na forma *depot* para aplicação mensal ou trimestral (32). As formulações de aGnRH de uso semestral e os implantes subdérmicos com duração de um ano a dois anos são opções terapêuticas, mas não estão comercializadas no Brasil (33). O acetato de leuprorrelina e a triptorrelina de uso mensal (dose de 3,75 mg ou 7,5 mg) ou trimestral (11,25 mg) são os análogos de GnRH mais utilizados para bloqueio puberal (34). Ao contrário das inúmeras publicações sobre os efeitos em curto e longo prazo do tratamento da PPC com aGnRH de uso mensal, os resultados de curto e longo prazo do tratamento da PPC com aGnRH de posologia trimestral são escassos (35–37).

Os aGnRH geralmente são bem tolerados em crianças e adolescentes, porém alguns efeitos adversos em curto prazo, tais como cefaleia, dor abdominal, náuseas, fogachos, alterações de humor de intensidade variável são descritos (32). Um efeito colateral de particular importância é a reação alérgica local, que resulta na formação de um abscesso estéril que impede a absorção do aGnRH e falha na supressão hormonal (32). Nestes casos, geralmente o tratamento é interrompido e outras opções secundárias para o bloqueio puberal, tais como acetato de medroxiprogesterona ou acetato de ciproterona, são utilizadas (36, 39, 40).

Os efeitos colaterais do aGnRH em longo prazo são controversos. Os estudos que avaliaram as influências potenciais sobre o índice de massa corporal, composição corporal, densidade mineral óssea, metabolismo de carboidratos e alterações na função reprodutiva apresentam resultados controversos (33, 41).

A média de idade da interrupção do tratamento em diversos trabalhos variou de 10,6 anos a 11,6 anos, com média de idade óssea variando de 12 anos a 12,5 anos em meninas e 13 anos a 13,5 anos em meninos (32).

Alguns trabalhos na literatura avaliaram mulheres adultas que apresentaram PPC tratadas com aGnRH para determinar o impacto sobre os parâmetros antropométricos, metabólicos, ósseos e reprodutivos (41–53). O seguimento em longo prazo desta população tem permitido algumas conclusões sobre tais parâmetros, embora lacunas na literatura ainda necessitem de elucidação.

1.4. Efeitos do tratamento da PPC com aGnRH na vida adulta

Estatura adulta

Diversos estudos identificaram fatores que influenciaram positiva e negativamente a aquisição de estatura final normal nos pacientes com PPC tratados com aGnRH (41–44). Em um estudo com 45 meninas brasileiras com PPC tratadas com aGnRH de uso mensal, os fatores determinantes de estatura adulta normal (definida como estatura dentro do intervalo normal do potencial genético) foram: o menor intervalo de tempo entre o início dos

sinais puberais e o início do tratamento, o maior desvio-padrão da altura no início e no final do tratamento, assim como maior estatura alvo (42, 43). É controverso o benefício do bloqueio puberal nas pacientes que iniciaram a puberdade entre seis anos e oito anos, e mesmo naquelas pacientes com puberdade acelerada entre oito anos e nove anos. Dois estudos independentes e randomizados em meninas com início de puberdade entre sete anos e meio e dez anos compararam o ganho estatural com o bloqueio puberal e não demonstraram benefício do tratamento sobre a estatura final (44, 45).

Índice de massa corporal e composição corporal

O tratamento com aGnRH não parece ter efeito deletério sobre o índice de massa corporal (IMC) em longo prazo (41, 46). Entretanto, aproximadamente 42% das pacientes com PPC apresentam sobrepeso antes do início do tratamento (41). Dois estudos demonstraram que o aumento do IMC após o uso de aGnRH estava inversamente relacionado ao *status* do peso pré-tratamento e o seguimento em longo prazo não evidenciou efeito deletério do tratamento com aGnRH sobre o IMC (55, 56).

A análise da composição corporal de 20 pacientes com PPC tratados com triptorrelina demonstrou aumento da massa gorda total, avaliada por DEXA (*dual-energy x-ray absorptiometry*), durante o seguimento longitudinal, sem efeitos significativos sobre o IMC (33, 47). Entretanto, mais estudos sobre a composição corporal e distribuição de gordura são necessários em pacientes com PPC tratados com aGnRH.

Avaliação metabólica

Perfil metabólico adverso e menor sensibilidade à insulina são observados em meninas com PPC comparadas a meninas com puberdade adequada para a idade (50). No estudo de Sorensen K *e cols.* (50), durante o primeiro ano de seguimento das pacientes em tratamento com aGnRH, o perfil metabólico deteriorou-se (sensibilidade a insulina), sugerindo que o tratamento com aGnRH interfira no estado metabólico adverso das meninas com PPC, causado potencialmente pelo aumento da massa gorda total (50).

Entretanto, em um estudo caso-controle de uma coorte histórica, Lazar *e cols.* (45) avaliaram a prevalência de obesidade, alterações metabólicas (hiperlipidemia, diabetes e hipertensão), e a taxa de câncer em mulheres com PPC tratadas com aGnRH e mulheres com PPC não tratadas entre a terceira e quinta décadas de vida (45). O grupo controle foi composto por mulheres agrupadas aleatoriamente para a idade. Neste estudo, a incidência de complicações relacionadas à obesidade, tais como disfunções metabólicas e câncer não foram aumentadas nas mulheres com antecedente de PPC (tratadas e não tratadas), assegurando o estado de saúde destas mulheres na idade adulta. Portanto, é questionável se as meninas com PPC seriam consideradas uma população de risco para a síndrome metabólica.

Função reprodutiva

O intervalo entre a interrupção do tratamento com aGnRH e a menarca é variável, avaliado em diversos estudos, com relato de intervalo de

0,5 ano a 2,5 anos (48, 49). Em meninas com puberdade fisiológica, a média de idade da menarca é de 12,43 anos (56). Nessas adolescentes, a média do intervalo dos ciclos menstruais é de 32,2 dias, sendo que o intervalo considerado normal nesse período é de 21 dias a 45 dias, de acordo com um consenso pediátrico (56). A partir do terceiro ano pós-menarca, 60% a 80% das mulheres passam a apresentar intervalos de 21 dias a 34 dias, padrão semelhante a adultos (56).

A função gonadal nas meninas com PPC idiopática tratadas com aGnRH parece não estar prejudicada na vida adulta, embora diversos trabalhos demonstrem que estas pacientes são predispostas a desenvolver a síndrome dos ovários policísticos (SOP), implicando o ganho de peso e a hiperinsulinemia como fatores determinantes (33, 50, 58). Ao contrário, outros estudos sugeriram que o tratamento com aGnRH não apresenta qualquer influência sobre a predisposição a SOP ou irregularidade menstrual (58). Um estudo sugeriu que o risco relativo para o desenvolvimento de hiperandrogenismo clínico com irregularidade menstrual foi duas vezes maior no grupo de mulheres não tratadas comparado ao grupo de tratadas, sugerindo que o bloqueio puberal poderia ter efeito protetor (49). Além disso, a taxa de fertilidade foi normal em mulheres tratadas com aGnRH (49).

Aspectos psicossociais

Alguns trabalhos demonstram que o desenvolvimento puberal precoce está potencialmente associado ao aumento da prevalência de diversos problemas comportamentais na adolescência (53), incluindo depressão,

abuso de drogas, distúrbios alimentares, insatisfação corporal, agressividade, comportamento sexual de risco, aborto e menor escolaridade (53). Entretanto, poucos trabalhos avaliaram os aspectos psicossociais em longo prazo em pacientes com PPC tratadas com aGnRH (32).

1.5 Justificativa

Apesar da literatura, lacunas persistem quanto à evolução em longo prazo desses pacientes; até o momento, não foi descrita a evolução daqueles com PPC de causa monogênica e pouco se sabe a respeito dos casos de PPC causada pelo HH. Portanto, é preciso documentar o seguimento dos pacientes com PPC tratados com aGnRH, analisando os parâmetros antropométricos, metabólicos, reprodutivos e psicossociais em suas diversas etiologias.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

- 1- Analisar os parâmetros antropométricos, metabólicos e reprodutivos de pacientes com PPC de diferentes etiologias, idiopática, genética e orgânica, após o tratamento com análogo de GnRH
- 2- Comparar os parâmetros antropométricos, metabólicos e reprodutivos entre pacientes com PPC idiopática tratadas com análogos de GnRH de uso mensal e trimestral.
- 3- Investigar os desfechos psicossociais de pacientes com PPC após o tratamento com análogos de GnRH.

3 PACIENTES E MÉTODOS

3 PACIENTES E MÉTODOS

Considerações éticas

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (parecer de número 1.385.131). O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), por escrito, foi obtido de todos os pais ou responsáveis ou dos pacientes (ANEXO A).

3.1 Pacientes

Trata-se de um estudo observacional, retrospectivo e longitudinal com avaliação transversal de uma coorte multicêntrica de 156 pacientes com PPC. Foram revisados sistematicamente os prontuários médicos arquivados pelo serviço de arquivamento médico e estatístico (SAME) do Hospital das Clínicas – FMUSP de 135 pacientes (127F: 8M) com PPC que foram diagnosticados, tratados e acompanhados na Unidade de Endocrinologia do Desenvolvimento da Disciplina de Endocrinologia e Metabologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), durante o período de 1985 a 2019. Adicionalmente, 21 pacientes do sexo feminino com PPC causada por mutação inativadora do *MKRN3*, provenientes de outros serviços nacionais (USP Ribeirão Preto-SP; Unicamp-SP; Governador

Valadares-MG; Rio de Janeiro-RJ) e internacionais (Argentina; Bélgica; EUA; Israel; Turquia) que foram submetidos ao estudo genético no Laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM42 da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) e acompanhados e tratados em outros serviços foram incluídos no estudo.

Os critérios de inclusão foram:

- a) Pacientes com diagnóstico clínico e hormonal de PPC idiopática, esporádica ou familiar (quando mais de um membro da família é afetado), com causa genética definida ou portadores de hamartoma hipotalâmico, que atingiram a altura final demonstrada por idade óssea > 15 anos para meninas ou 17 anos para meninos com velocidade de crescimento no último ano < 0,5 cm.
- b) Pacientes com PPC tratadas exclusivamente com aGnRH de uso mensal e, ou trimestral com tempo de tratamento superior a um ano.
- c) Menarca há pelo menos dois anos, em meninas.

Os critérios de exclusão foram:

- a) Pacientes que foram pequenas para idade gestacional (PIG), doenças crônicas, com displasia óssea, doença orgânica neurológica, hiperplasia adrenal congênita ou outras anormalidades endocrinológicas.

Os critérios de exclusão foram selecionados por interferirem nos desfechos finais analisados. Desta forma, segue abaixo o desenho de todos os pacientes estudados.

Do total de 156 pacientes, 92 foram incluídos na pesquisa [43 PPC idiopática (PPCI) (43 F), 35 PPC causada por mutação genética (34 F: 1 M) e 14 PPC causada por hamartoma hipotalâmico (PPC-HH) (7 F: 7 M)] e 64 pacientes foram excluídos de acordo com os critérios citados acima.

O recrutamento dos pacientes foi realizado por meio de lista de contatos institucional com telefonema, envio de carta ou *e-mail*, explicando o objetivo geral do estudo e pedindo permissão (TCLE) para nova consulta médica no próprio hospital onde seria realizada nova avaliação clínica, laboratorial e de imagem.

O grupo PPC causada por mutação monogenética foi então constituído por 29/35 (82,8%) pacientes com PPC causada por mutação inativadora do *MKRN3*, sendo que 8/29 pacientes foram acompanhados no HCFMUSP e 21/29 pacientes eram provenientes de outros serviços, 4 pacientes com PPC causada por mutação inativadora no *DLK1*, 1 paciente com mutação ativadora no *KISS1R* e 1 paciente com mutação ativadora no *KISS1* (Figura 1).

Setenta e um pacientes [43 PPCI (43 F), 17 PPC monogênica (16 F: 1 M) e 11 PPC-HH (5 F: 6 M)] foram tratados exclusivamente com aGnRH de ação prolongada, nas doses de 3,75 mg de aplicação mensal ou 11,25 mg de aplicação trimestral, e acompanhados até a estatura final, constituindo a casuística de avaliação em longo prazo.

F: feminino; M: masculino

Figura 1 - Fluxograma da casuística com todos os pacientes avaliados

O desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários, estágio de Tanner > ou igual a 2 para mamas em meninas e > ou igual ao estágio 2 de gônadas em meninos (volume > 4 mL ou diâmetro > 2,5 cm) (7, 8), antes dos oito anos e nove anos de idade cronológica retrospectivamente, associado à aceleração da velocidade de crescimento (> 6 cm/ano), avanço da maturação esquelética (superior a 1 ano ou 2 desvios-padrão) e comprovação laboratorial de ativação do eixo gonadotrófico confirmaram o diagnóstico de PPC. A forma familiar de PPC foi considerada quando mais de um membro da família apresentou puberdade precoce (9). A história familiar foi sistematicamente questionada pela idade de menarca < 9 anos no sexo feminino, como puberdade precoce. No sexo masculino, as

questões incluíram se a idade de puberdade ocorreu em idade normal comparada aos pares, idade do primeiro barbear ou idade do engrossamento da voz.

Os pacientes com PPC foram tratados com aGnRH, 3,75 mg a cada quatro semanas ou 11,25 mg a cada 12 semanas, via intramuscular ou subcutânea. O tratamento foi interrompido quando os pacientes apresentaram IC de 10,5 anos a 11 anos e idealmente IO de 12 anos – 12,5 anos nas meninas e 13 anos-13,5 anos nos meninos (42, 60).

3.2 Avaliação clínica

Todos os pacientes foram avaliados clinicamente e durante a consulta foram realizadas medidas antropométricas (peso, altura e índice de massa corpórea-IMC), aferido a pressão arterial, exame físico para identificação da presença de hirsutismo (escala de Ferriman e Galley) (60), questionados os dados relacionados a questões reprodutivas (ANEXO B), análise da composição corporal pela bioimpedanciometria, dosagem hormonal e aplicação de questionário para avaliação psicossocial (ANEXO C).

Os pacientes foram agrupados de acordo com a etiologia da PPC: PPC idiopática (PPCI), PPC de origem genética causada por mutação no *MKRN3*, PPC causada por mutação no *DLK1* e PPC secundária a HH (PPC-HH). Adicionalmente, os pacientes foram agrupados de acordo com a posologia do tratamento com aGnRH recebido: Grupo A - uso mensal 3,75

mg (n=21) ou Grupo B - uso trimestral 11,25 mg (n=22), com o objetivo de comparar os resultados finais do tratamento.

A medida da altura alvo (AA) foi calculada a partir da altura dos pais e determinada pela média da altura dos pais menos 6,5 cm para meninas e mais 6,5 cm para meninos. O intervalo do canal familiar para a altura foi estabelecido como $AA \pm 8,5$ centímetros (2 DP) (61).

O IMC [peso (Kg) / altura (metros) ao quadrado)] foi calculado em todos os pacientes adultos e classificado de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde (WHO): baixo peso < 18,5, peso adequado - 18,5 – 24,9, sobrepeso – 25 – 29,9, e obesidade > 30 (62).

Na infância e adolescência, o IMC de todos os pacientes com PPC foi calculado no momento do diagnóstico e durante todas as consultas de seguimento no período do tratamento, incluindo a idade da interrupção do tratamento com aGnRH. O IMC foi avaliado usando os percentis de IMC convertidos para a idade e gênero de acordo com a CDC2000 (63), classificando como: baixo peso < 5 percentil, peso normal- 5 -84 percentil, sobrepeso- 85 -94 percentil, obesidade > 95 percentil (64).

A avaliação da composição corporal foi realizada por meio da bioimpedanciometria, utilizando o aparelho InBody, analisador de composição corporal, InBody (720) (Biospace, Korea). Este método analisa a composição corporal por pletismografia multifrequência, que faz leituras do corpo utilizando oito eletrodos, que medem a resistência em cinco frequências específicas (1 kHz, 50 kHz , 250 kHz, 500 kHz e 1 MHz) e reatância em três frequências específicas (5 kHz , 50 kHz e 250 kHz).

O diagnóstico da síndrome do ovário policístico (SOP) foi confirmado se dois dos três seguintes critérios fossem encontrados: hirsutismo ou hiperandrogenemia sérica (elevação dos níveis séricos de testosterona livre e total séricos, androstenediona ou sulfato de DHEA), irregularidade menstrual ou morfologia ovariana anormal ao ultrassom (66, 67). A morfologia para ovários policísticos foi considerada quando houvesse presença de 12 ou mais folículos 2 mm-9 mm de diâmetro e, ou um aumento do volume ovariano >10 mL (sem um cisto ou folículo dominante) em qualquer dos ovários (67). Visto que o diagnóstico de SOP é de exclusão, todos os distúrbios que sobrepõem as características clínicas da SOP foram excluídos: doença tireoidea, hiperprolactinemia e hiperplasia adrenal congênita não clássica (principalmente a deficiência de 21-hidroxilase). Mulheres com amenorreia e fenótipos mais graves foram submetidas a avaliação mais extensa para excluir outras causas. Hiperandrogenismo clínico incluiu hirsutismo (definido pela presença de pelos terminais em excesso e com distribuição semelhante à dos homens), acne ou alopecia androgênica. O hirsutismo foi classificado pela pontuação de acordo com Ferriman-Gallwey em que um total de 8 a 15 define hirsutismo leve, e 16 a 24, hirsutismo moderado (60).

A Tabela 2 descreve os critérios de SOP em seus quatro fenótipos (60).

Tabela 2 - Critérios diagnósticos de SOP

1. Fenótipo 1 ("SOP clássico")

- a. Evidência clínica e, ou bioquímica de hiperandrogenismo
- b. Evidência de oligoanovulação
- c. Evidência ultrassonográfica de um ovário policístico

2. Fenótipo 2 (Critério essencial do NIH)

- a. Evidência clínica e, ou bioquímica de hiperandrogenismo
- b. Evidência de oligoanovulação

3. Fenótipo 3 ("SOP ovulatória")

- a. Evidência clínica e, ou bioquímica de hiperandrogenismo
- b. Evidência ultrassonográfica de um ovário policístico

4. Fenótipo 4 (SOP não hiperandrogênico)

- a. Evidência de oligoanovulação
 - b. Evidência ultrassonográfica de um ovário policístico
-

Fonte: Rosenfield RL. The Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome in Adolescents. *Pediatrics*. 2015 (60)

3.3 Avaliação laboratorial

Os exames laboratoriais para avaliação hormonal e metabólica foram realizados no Laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM 42 do HCFMUSP.

As concentrações séricas de gonadotrofinas, estradiol, DHEA-S, testosterona total e SHBG para cálculo da testosterona livre e insulina foram mensuradas pelo método eletroquimioluminescência (ECLIA) (Plataforma Modular Cobas e601, Roche *Diagnostics*, Indianapolis, IN). As concentrações séricas de 17OH progesterona e androstenediona foram dosadas pelo método de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de

massas em tandem (LC-MS/MS). As dosagens de colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e triglicérides foram avaliadas pelo método enzimático colorimétrico. A glicemia de jejum foi medida por hexoquinase e o HOMA-IR foi calculado por fórmula padrão (68).

O diagnóstico laboratorial de puberdade precoce foi baseado nas dosagens de LH e dos esteroides sexuais (estradiol e testosterona). Os valores das gonadotrofinas basais e pós-estímulo com aGnRH e níveis de estradiol foram mensurados pela RIA até 1991, ou pelo método imunofluorométrico (IFMA) após este período. Pelo RIA, pico de LH após GnRH (100µg gonadorelin IV) maior que 15U/L em meninas foi considerado como resposta puberal (70, 71). Pelo IFMA, LH basal > 0,6 U/L ou pico de LH > 6,9 U/L após estímulo com aGnRH de ação curta ou LH >10 U/L após estímulo aGnRH de ação prolongada (leuprorrelina ou triptorrelina) foram consideradas respostas puberais (70). Para os métodos mais recentes de dosagem de gonadotrofinas, como quimioluminescência (ICMA) e eletroquimioluminescência (ECLIA), valores de LH basal > 0,3 U/L e pico após aGnRH >8 U/L foram considerados puberais (32, 72).

3.4 Avaliação genética

O DNA genômico foi isolado de leucócitos do sangue periférico de todos os pacientes e de outros membros da família usando procedimentos padrão. A análise molecular do *KISS1*, *KISS1R*, *MKRN3* e *DLK1* foi

realizada em todos os pacientes, de acordo com protocolos previamente publicados para cada gene (5, 15–17).

3.5 Avaliação de imagem

As idades ósseas (IO) pregressas foram avaliadas pelo mesmo observador utilizando o atlas de Greulich e Pyle (72).

A ultrassonografia pélvica para avaliação morfológica dos ovários e útero foi realizada no centro de Radiologia da FMUSP. A morfologia ovariana foi avaliada por ultrassom, usando transdutor convexo com comprimentos de onda que variam de 2 mega-hertz a 5 mega-hertz para ultrassonografia pélvica e transdutores endocavitários convexos, com comprimentos de onda que variam de 5 mega-hertz a 10 mega-hertz para ultrassom transvaginal. O volume de ovário foi calculado pela fórmula $(D1 \times D2 \times D3 \times 0,523)$ e o volume uterino, pela fórmula $(D1 \times D2 \times D3 \times 0,45)$; o tamanho dos cistos foi obtido pelo maior diâmetro ou área do cisto.

Todos os pacientes, após o diagnóstico laboratorial de PPC, foram submetidos a exame de ressonância magnética de encéfalo para excluir causas orgânicas de PPC. O hamartoma hipotalâmico (HH) foi identificado por ressonância magnética (RM) nos 14 pacientes que constituíram o grupo PPC-HH com tamanhos e formas distintas. O diâmetro do HH variou de 5 mm a 30 mm em meninos e 4 mm a 13 mm em meninas. Em relação à forma, 5 dos 14 HH foram classificados como pedunculados (2 meninos e 3 meninas). Todos os pacientes foram submetidos a, pelo menos, 2 RM no

intervalo de quatro anos a seis anos e não foram identificadas alterações no tamanho ou forma. A Figura 2 apresenta uma RM de um hipotálamo normal e duas imagens com a presença do HH.

Figura 2 - Ressonância magnética (corte sagital) de região hipotálamo-hipofisária revelando A: cisterna supraselar livre (normal), B e C: massa isointensa entre o infundíbulo e os corpos mamilares, sem realce após contraste, sugestiva de hamartoma hipotalâmico

3.6 Questionário psicossocial (ANEXO C)

O questionário psicossocial foi elaborado com o objetivo de avaliar questões consideradas relevantes em estudos da literatura que indicaram desfechos psicossociais desfavoráveis associados à puberdade precoce (54, 74).

Fluxograma de investigação clínica e laboratorial dos pacientes tratados com aGnRH devido a PPC

- Recrutamento e agendamento da consulta.
- Revisão do prontuário antes da consulta ambulatorial.

Primeira consulta:

Exame físico com medidas antropométricas e aplicação do questionário psicossocial (ANEXO C), verificação de história familiar de doenças cardiovasculares, avaliação da pressão arterial, presença de sinal clínico de hiperinsulinismo (*acantose nigricans*) e hirsutismo clínico.

Exames solicitados:

- Dosagens hormonais basais: LH, FSH e estradiol fase folicular, TSH, T4 livre, progesterona (21º dia do ciclo), testosterona total e livre, DHEAS, 17 (OH) hidroxiprogesterona e androstenediona;
- Exames metabólicos: glicose e insulina em jejum, HOMA-IR e lipidograma (colesterol total e frações, triglicerídeos);
- Coleta de DNA para investigação de causa genética da PPC, caso não tenha sido realizada;
- Bioimpedanciometria;
- Ultrassonografia pélvica (transvaginal ou abdominal).

Figura 3 - Fluxograma das investigações clínicas e laboratoriais dos pacientes selecionados para este estudo

3.7 Análise estatística

A análise estatística foi realizada usando SigmaStat para Windows v.3.5, Systat Software, Inc. Para testar o padrão de distribuição das variáveis numéricas foi utilizado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov, sendo considerada distribuição normal quando $p > 0,05$. Os dados estão apresentados como média $\pm$ DP (desvio-padrão) ou mediana e intervalo, de acordo com a distribuição normal ou não normal, respectivamente. As comparações entre as médias e medianas das variáveis numéricas foram calculadas usando o teste t de Student ou teste de Mann-Whitney, respectivamente. Correlações entre dois parâmetros foram determinadas pelo coeficiente de correlação de Pearson. A comparação entre variáveis

categóricas foi realizada utilizando o teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher. Significância estatística foi estabelecida em $p \leq 0,05$.

4 RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 Dados clínicos e hormonais dos pacientes com PPC idiopática e PPC causada por mutação no *MKRN3*

4.1.1 Dados clínicos e hormonais ao diagnóstico

Foram avaliadas 43 meninas com PPCI, sendo que 11 (25,6%) tinham história familiar de puberdade precoce e foram consideradas PPC familiar. A média da idade cronológica no início da puberdade foi 6,4 anos $\pm$ 1,3 ano e a média da IO inicial foi 10,5 anos $\pm$ 1,3 ano (Tabela 3; ANEXO Tabela 1). Dezoito pacientes (41,8%) iniciaram puberdade antes dos seis anos de IC. O estágio puberal do desenvolvimento mamário variou de M2 a M4 e de pelos pubianos de P1 a P3 ao diagnóstico. Três pacientes (7,1%) referiram ocorrência de menarca antes da primeira consulta. Na primeira consulta, a média do DP de altura foi 1,7 $\pm$ 1,1 e o percentual de sobrepeso e obesidade foi 50%, sendo 23,8% classificadas como obesas e 26,2%, como sobrepeso. Os valores de LH em condição basal foram puberais em 30/41 (73,1%), enquanto as 30 pacientes submetidas ao teste de estímulo com GnRH/aGnRH apresentaram valores puberais com média do LH basal e de pico após estímulo de 1,7 U/L $\pm$ 1,7 U/L e 18,7 U/L $\pm$ 11,2 U/L, respectivamente. Os valores de estradiol foram pré-puberais em 37,8% das pacientes (Tabela 3) (ANEXO Tabela 1).

A média da IC no início do tratamento com aGnRH nas pacientes com PPCI foi 8,3 anos $\pm$ 1,1 ano, sendo 74,4% das meninas acima de 8 anos.

Foram identificadas 13 mutações inativadoras distintas na região codificadora do *MKRN3* e uma deleção na região promotora (ANEXO Tabela 7) nas 29 pacientes com PPC devido a mutações no *MKRN3*. Vinte e dois pacientes (75,8%) apresentaram mutações graves (18 *frameshift*, três mutações *non sense* e uma deleção) e sete pacientes apresentaram mutações *missense*.

No subgrupo de meninas com PPC causada por mutação no *MKRN3*, a média da IC do início da puberdade foi 5,9 anos $\pm$ 1,2 ano e o estágio puberal do desenvolvimento mamário variou de M2 a M5 nas meninas e de pelos pubianos de P1 a P3 ao diagnóstico. Nenhuma paciente referiu menarca na primeira consulta. Os valores de LH em condição basal foram puberais em 96,1% das pacientes com média de 1,4 U/L $\pm$ 0,9 U/L, enquanto o valor médio de pico do LH nas pacientes submetidas ao teste de estímulo com GnRH/aGnRH foi 24,9 U/L $\pm$ 19,8 U/L. Os valores basais de estradiol foram puberais em 88% destas pacientes.

Ao diagnóstico, a média de altura (DP) das pacientes do subgrupo PPC causada por mutação no *MKRN3* foi 127,8 $\pm$ 8,2 (DP:1,4 $\pm$ 0,9) e o percentual de sobrepeso e obesidade foi 26,3% /21% (Tabela 3). A média da idade cronológica no início do tratamento com GnRHa foi 7,3 anos $\pm$ 0,9 ano.

Tabela 3 - Dados clínicos e hormonais dos pacientes com PPC de causa idiopática (PPCI) e PPC causada por mutação no *MKRN3* ao diagnóstico

	PPCI	<i>MKRN3</i>	<i>p</i>
	n=43	n=29	
IC no início da puberdade (anos)	6,4 ± 1,3*	5,9 ± 1,2	0,12
IC no início do tratamento (anos)	8,3 ± 1,3	7,3 ± 0,9	< 0,001
IO inicial (anos)	10,5 ± 1,3	9 ± 1,6	< 0,001
IO - IC (anos)	2,3 ± 1,2	2,1 ± 1,4	0,7
Altura (cm)	135,6 ± 8,1	127,8 ± 8,2	NA
Altura (DP)	1,7 ± 1,1	1,4 ± 0,9	0,34
IMC (kg/m²)	17,9 (12,2-22,6)**	16,8 (15,6-19,3)	0,14
% sobrepeso/ %obesidade	26,2 / 23,8	26,3/21	0,16
LH basal (U/L)	1,7 ± 1,7	1,4 ± 0,9	0,35
FSH basal (U/L)	4,4 ± 2,8	4,4 ± 1,7	0,08
LH após GnRH/GnRHa (U/L)	18,7 ± 11,2	24,6 ± 19,8	0,18
Estradiol (pg/mL)	27,8 ± 19,4	35,4 ± 22,1	0,17

IC: idade cronológica; IO: idade óssea; ND: não disponível, NA: não aplicável; * média ± DP;
 ** mediana (intervalo)

4.1.2 Dados clínicos e hormonais no final do tratamento com aGnRH

Durante o tratamento com aGnRH, os parâmetros clínicos e hormonais do bloqueio puberal foram avaliados trimestralmente. O controle clínico adequado foi determinado pela regressão ou estabilização do estágio puberal de Tanner (avaliado pelo desenvolvimento mamário em meninas e tamanho testicular em meninos) e velocidade de crescimento normal para IC em todos os pacientes ⁽⁹⁾. Além disso, a supressão hormonal adequada, avaliada por LH basal e, ou LH estimulados com GnRH ou LH 120 min após aGnRH e esteroides sexuais (estradiol na menina e testosterona nos meninos), foi atingida por todos os pacientes, considerando os critérios mencionados anteriormente (dados não mostrados).

Nas 43 pacientes com PPCI, a média do tempo de tratamento com aGnRH foi 2,6 anos $\pm$ 1,1 ano e a média da IC e da IO na suspensão do aGnRH foi 10,9 anos $\pm$ 0,5 ano e 12,3 anos $\pm$ 0,7, ano, respectivamente.

Os dados antropométricos de uma paciente (paciente 40) no final do tratamento não estavam disponíveis. A média da altura (DP) no final do tratamento dos pacientes com PPCI foi 151,2 cm $\pm$ 5,6 cm (1,3 $\pm$ 1,1). De forma interessante, o percentual de sobrepeso e obesidade no final do tratamento (47,6%; 13/42 [30,9 %] obesas e 7/42 [16,6%] com sobrepeso) foi semelhante ao percentual ao diagnóstico (50%), porém com aumento não significativo do número de pacientes obesas (Tabela 4) (ANEXO Tabela 2).

No subgrupo PPC causada por mutação no *MKRN3*, 11 pacientes terminaram o tratamento com aGnRH e atingiram a altura final (dez pacientes portadores de mutação no *MKRN3* e um paciente (paciente 4)

com mutação na região promotora do *MKRN3* [c.-150_-147delTCAG]) (ANEXO Tabela 5). A média do tempo de tratamento foi 2,9 anos $\pm$ 0,9 ano e a da IC e da IO na suspensão do tratamento foi 10,6 anos $\pm$ 1 ano e 12,5 anos $\pm$ 0,9 ano, respectivamente.

Ao final do tratamento com aGnRH, a média de altura (DP) do grupo foi 148 cm $\pm$ 5,4 cm (1,2 $\pm$ 1,1). O percentual de sobrepeso e obesidade foi menor em relação ao diagnóstico (47,3% vs. 36,2%) (Tabela Tabela 4).

Tabela 4 - Dados clínicos dos pacientes com PPC de causa idiopática (PPCI) e causada por mutação no *MKRN3* ao final do tratamento com aGnRH

	PPCI	<i>MKRN3</i>	<i>p</i>
	n=43	n=11	
Tempo de tratamento (anos)	2,6 $\pm$ 1,1	2,9 $\pm$ 0,9	0,55
IC (anos)	10,9 $\pm$ 0,5	10,6 $\pm$ 1	0,1
IO (anos)	12,3 $\pm$ 0,7	12,5 $\pm$ 0,8	0,43
IO-IC (anos)	1,4 $\pm$ 0,8	1,9 $\pm$ 1,2	0,1
Altura (cm)	151,2 $\pm$ 5,6	148 $\pm$ 5,4	NA
Altura (DP)	1,3 $\pm$ 1,1	1,2 $\pm$ 1,1	0,68
IMC (kg/m ²)	20,7 (15,5-30)	19,8 (15,9-29,3)	0,4
% sobrepeso/ %obesidade□	16,6/30,9	9/27,2	0,16

IC: idade cronológica; IO: idade óssea; ND: não disponível, NA: não avaliado

4.1.3 Dados antropométricos, metabólicos e reprodutivos na altura final

4.1.3.1 Aspectos antropométricos

Na última consulta médica, a média da IC das pacientes do grupo PPCI foi 16,5 anos $\pm$ 3,4 anos. A média da AF (DP) das pacientes com PPCI que foram tratadas com aGnRH foi 161,4 cm $\pm$ 6,6 cm (- 0,1 $\pm$ 1,1). O crescimento linear médio pós-tratamento até atingir a AF foi 10,2 cm $\pm$ 3,7 cm. A média da AA (DP) foi 159 cm $\pm$ 5,9 cm (- 0,5 $\pm$ 1,0) (Tabela 5). A AF situou-se dentro do intervalo da AA em 42/43 pacientes (97,6%) (Figura 4). Uma paciente (paciente 1) não atingiu AF normal devido ao atraso no início do tratamento e menor DP de altura ao diagnóstico e na suspensão do tratamento (ANEXO Tabela 3).

NS: não significante ($p > 0,05$)

Figura 4 - Altura alvo (AA) e altura final (AF) do grupo de pacientes com PPCI tratados com aGnRH

Baseado no IMC categorizado, o percentual de sobrepeso e obesidade dos pacientes com PPCI na idade adulta, comparado àquele ao diagnóstico (50%) e ao final do tratamento (47,6%), foi reduzido para 33,4%, sendo 13/42 (31%) pacientes com sobrepeso e somente uma (2,4%) com obesidade. Entretanto, a média do percentual de gordura corporal das pacientes foi elevado ($31,6\% \pm 6,6\%$; VR: 18% -28%) (Tabela 5).

A avaliação longitudinal do IMC categorizado em normal, sobrepeso e obesidade nos três momentos avaliados está ilustrada na Figura 5. Houve redução significativa do percentual de sobrepeso e obesidade entre o diagnóstico e a altura final ($p < 0,05$) (Figura 5). Não houve diferença estatisticamente significativa dos percentuais de sobrepeso ou obesidade entre o início e o final do tratamento com aGnRH ($p > 0,05$).

Figura 5 - Evolução longitudinal de acordo com a categoria de peso corporal (normal/ sobrepeso e obesidade) do grupo de pacientes com PPCI tratados com aGnRH

A avaliação individual do comportamento do IMC das 43 participantes do grupo PPC revelou que 22 (51,2%) pacientes apresentavam IMC normal para a idade no início da puberdade, das quais três (13,6%) apresentaram sobrepeso ou obesidade na vida adulta. Entretanto, das 21 (48,8%) pacientes que apresentavam sobrepeso ou obesidade no início da puberdade, 71,4% reduziram o IMC na vida adulta.

Em relação às pacientes do grupo PPC causada por mutação no *MKRN3*, na última consulta médica, a média da IC das pacientes foi 18,3 anos $\pm$ 4,5 anos. A média de altura final (DP) foi 157,6 cm $\pm$ 5,1 cm (- 0,7 $\pm$ 0,8) e a média de AA (DP) foi 159,2 cm $\pm$ 5,2 cm (-0,5 $\pm$ 0,8). A AA não estava disponível em dois pacientes do grupo e as outras oito pacientes apresentaram AF dentro do canal familiar, e uma paciente ficou abaixo do canal familiar (paciente 8) (Figura 6) (ANEXO Tabela 8).

NS: não significante ($p > 0,05$)

Figura 6 - Altura alvo (AA) e altura final (AF) do grupo de pacientes com PPC devido à mutação no gene *MKRN3* tratados com aGnRH

A média do IMC do subgrupo de pacientes com PPC por mutação no *MKRN3* foi $23,4 \text{ Kg/m}^2 \pm 6,3 \text{ Kg/m}^2$, porém apenas três pacientes foram submetidas à avaliação de composição corporal pela bioimpedância e os valores percentuais de gordura corporal foram elevados ($35,4\% \pm 13,6\%$, VR: 18% - 28%) (Tabela 5). O percentual de sobrepeso e obesidade reduziu-se do diagnóstico ao final do tratamento no subgrupo de pacientes com PPC causada por mutação no *MKRN3* (47,5% vs. 36,2%) ($p > 0,05$) (Figura 7). Na altura final, 9% tinham sobrepeso e 18,2%, obesidade. A avaliação longitudinal do IMC categorizado em normal, sobrepeso e obesidade, nos três momentos avaliados, está ilustrada na Figura 7. Houve redução significativa do percentual de sobrepeso e obesidade entre o diagnóstico e a altura final ($p < 0,05$). Da mesma forma, não houve diferença significativa nos percentuais de sobrepeso ou obesidade durante o tratamento com aGnRH.

Figura 7 - Evolução longitudinal de acordo com a categoria de peso corporal (normal/ sobrepeso/ obesidade) do grupo de pacientes com PPC causada por mutação no *MKRN3* tratados com aGnRH

Tabela 5 - Dados clínicos dos pacientes com PPC de causa idiopática (PPCI) e causada por mutação no *MKRN3* na altura final

	PPCI	<i>MKRN3</i>	<i>p</i>
	n=43	n=11	
IC (anos)	16,5 ± 3,4	18,3 ± 4,5	0,14
Idade da menarca (anos)	12 ± 0,6	11,5 ± 1,3	0,1
Intervalo suspensão - menarca	1,1 ± 0,5	0,9 ± 0,7	0,27
Crescimento pós-tratamento (cm)	10,2 ± 3,7	9,6 ± 3,7	0,6
AA (cm)	159 ± 6	159,2 ± 5,6	0,94
AA (DP)	- 0,5 ± 1,0	-0,5 ± 0,9	0,94
AF (cm)	161,4 ± 6,6	157,6 ± 5,4	0,09
AF (DP)	- 0,2 ± 1,1	-0,7 ± 0,9	0,1
IMC (Kg/m²)	23,1 ± 3,5	23,4 ± 6	0,8
IMC (kg/m²)	22,7 (17,4-31)	21,4 (17,4-36,8)	
% sobrepeso/% obesidade	31 / 2,4	9/18,2	0,16
% Gordura corporal *	31,6 ± 6,6	35,4 ± 13,6 (n=3)	0,43

IC: idade cronológica; AA: altura alvo; * % gordura corporal VR: F: 18%-28% M: 10%-20%

4.1.3.2 Correlações entre altura final e variáveis nas pacientes com PPCI tratadas com aGnRH

Nas 43 pacientes com PPCI foram identificadas correlações positivas e significativas entre a AF e o DP da altura no início e no final do tratamento ($r = 0,734$; $p < 0,001$; $r = 0,797$; $p < 0,001$, respectivamente), AA ($r = 0,449$; $p = 0,0004$), IC no final do tratamento ($r = 0,316$; $p = 0,039$), e crescimento pós-tratamento ($r = 0,507$; $p < 0,001$) (Tabela 6).

No grupo de pacientes com PPC causada por mutação no *MKRN3*, houve correlações positivas e significativas entre AF e o DP da altura ao diagnóstico e no final do tratamento com GnRHa ($r=0,8$, $p=0,005$ e $r=0,76$, $p=0,0063$, respectivamente) (Tabela 7).

Tabela 6 - Fatores associados à altura final (cm) em meninas com PPCI tratadas com aGnRH

Fatores preditivos	r	p
No início do tratamento		
IC (anos)	- 0,165	0,289
IO (anos)	- 0,087	0,578
Intervalo entre a IC no início da puberdade e no início do tratamento (anos)	0,014	0,925
IO - IC	0,071	0,648
Altura (DP)	0,734	<0,001
AA (cm)	0,449	0,0004
Durante o tratamento		
Duração do tratamento (anos)	0,067	0,665
Ao final do tratamento		
IC (anos)	- 0,316	0,039
IO (anos)	- 0,248	0,117
IO - IC	- 0,035	0,827
Δ IO/ Δ IC	- 0,052	0,747
Altura (DP)	0,797	<0,001
Crescimento pós-tratamento	0,507	<0,001

IC: idade cronológica; IO: idade óssea; AA: altura alvo

Tabela 7 - Fatores associados à altura final (cm) em meninas com PPC causada por mutação no *MKRN3* tratadas com aGnRH

Fatores preditivos	r	p
No início do tratamento		
IC (anos)	0,06	0,86
IO (anos)	0,45	0,16
Intervalo entre a IC no início da puberdade e o início do tratamento (anos)	0,22	0,52
IO - IC	0,43	0,18
Altura (DP)	0,8	0,005
AA (cm)	0,5	0,16
Duração do tratamento (anos)	-0,17	0,6
Ao final do tratamento		
IC (anos)	-0,3	0,36
IO (anos)	-0,3	0,4
IO - IC	0,07	0,84
Δ IO/ Δ IC	0,32	0,37
Altura (DP)	0,76	0,006
Crescimento pós-tratamento	0,28	0,4

IC: idade cronológica; IO: idade óssea; AA: altura alvo

4.1.3.3 Aspectos metabólicos

A avaliação dos parâmetros metabólicos foi realizada em 34/43 (79%) pacientes com PPCI.

Na vida adulta, a resistência insulínica foi diagnosticada em 4/21 (19%) das pacientes, presença de hipertrigliceridemia em 1/34 (2,9%) e aumento de LDL em 3/34 (8,8%). Apesar das alterações metabólicas, estas três pacientes com LDL aumentado apresentaram IMC normal (Tabela 8) (ANEXO Tabela 3).

Em relação aos parâmetros metabólicos do subgrupo PPC por mutação no *MKRN3*, as sete pacientes avaliadas tinham glicemia de jejum normal e três quartos, HOMA-IR normal. A hipercolesterolemia por aumento de LDL foi encontrada em 1/6 (16,6%) das pacientes. Todas as pacientes avaliadas (n=6) apresentaram HDL e triglicérides normais (Tabela 8, ANEXO Tabela 9).

4.1.3.4 Aspectos reprodutivos

Nas pacientes do grupo PPCI, o intervalo médio entre a suspensão do tratamento e a ocorrência da menarca foi 1,1 ano $\pm$ 0,5 ano. A média da idade da menarca foi 12 anos $\pm$ 0,6 ano (10,8 anos a 13,3 anos).

A avaliação completa dos parâmetros reprodutivos laboratoriais foi realizada em 23/43 (53,5%) das pacientes com PPCI e 22 foram submetidas ao USG de pelve.

Irregularidade menstrual foi referida por 6/33 (18,1%) das mulheres sendo que 4/29 (13,8%) apresentaram critérios clínicos e laboratoriais de hiperandrogenismo e 6/22 (27,3%), critérios ultrassonográficos de SOP. Critérios para SOP, entretanto, foram encontrados em 2/33 (6%) das pacientes avaliadas, classificadas com fenótipo 1 (Tabela 2). As concentrações de progesterona indicaram ovulação em 6/23 (27,2%) das pacientes avaliadas (Tabela 8). Os valores de referência dos dados hormonais e metabólicos estão apresentados na Tabela 9. Até a última avaliação, nenhuma paciente com PPCI referiu gestação ou filhos.

No subgrupo das pacientes com PPC causada por mutação no *MKRN3*, a média da IC na menarca foi 11,5 anos $\pm$ 1,3 ano, ocorrendo 0,9 ano $\pm$ 0,6 ano após a suspensão do tratamento com aGnRH. Irregularidade menstrual foi referida por 2/11 (18,2%) das pacientes sendo que uma delas preencheu critério para SOP, também (Tabela 5 e 8). Uma paciente referiu uma gestação espontânea, sem intercorrências e com prole saudável. As outras pacientes não manifestaram desejo de engravidar até a última avaliação.

Tabela 8 - Dados hormonais e metabólicos dos pacientes com PPC de causa idiopática (PPCI) e causada por mutação no *MKRN3* na altura final

	PPCI	<i>MKRN3</i>	<i>p</i>
	n=34	n=11	
LH (U/L)	3,1 (1,3 - 35,5)	4,5 (0,8 - 19) (6)*	0,5
FSH (U/L)	4,9 ± 1,6	4,2 ± 1,9	0,3
E ₂ (pg/mL)	59 (14,6 - 391)	37,7 (17 - 247)	0,4
Testosterona (ng/dL)	31 (12 - 79)	39,5 (12 - 93)	0,8
DHEA-S (ng/mL)	2100 ± 884	2166 ± 1875	0,9
Δ4 (ng/mL)	1,4 ± 0,7	1 ± 0,4	NA
Progesterona (ng/mL)	3 ± 4	7,9 ± 1,7	NA
Colesterol total (mg/dL)	143,6 ± 27,7	164,8 ± 36,1	NA
HDL (mg/dL)	52,5 ± 9,9	67 ± 16,8	NA
LDL (mg/dL)	76,4 ± 23,7	87,8 ± 23,8	NA
Triglicérides (mg/dL)	72,6 ± 26	77,5 ± 23,4	NA
Glicemia (mg/dL)	83,6 ± 5,7	86,3 ± 6,3	NA
Insulina (mU/L)	12,9 ± 4,8	12,1 ± 2,3	NA
HOMA-IR	2,6 ± 1	2,5 ± 0,5	NA
Alterações metabólicas			
- resistência insulínica	4/34	1/7	0,8
- LDL alto	3/34	2/7	0,2
- hipertrigliceridemia	0	0	-
- diabetes <i>mellitus</i>	0	0	-
- hipertensão	0	0	-
- alterações metabólicas totais (%)	6/34 (17,6)	3/7 (42,8)	0,25
Irregularidade menstrual (%)	18,1	18,2	1,0
SOP (%)	5,9	9,1	0,4

Tabela 9 - Valores de referência para os dados hormonais e metabólicos na vida adulta

	Valor de referência
LH (U/L)	Homens: 1,7-8 Mulheres: 2,4-12,8 (fase folicular)
FSH (U/L)	1,5 - 12,4
E₂ (pg/mL)	< 10 - 122 (fase folicular)
Testosterona (ng/dL)	Homens: 249 - 836 Mulheres: < 48
DHEA-S (ng/mL)	1480 – 4070
Δ4 (ng/mL)	0,25 - 2,2
Progesterona (ng/mL)	1,7 - 27 Fase folicular: até 1,5 ng/mL Fase ovulatória: 0,8 a 3,0 Fase lútea: 1,7 a 27 ng/mL)
Colesterol total (mg/dL)	< 200
HDL (mg/dL)	> 45
LDL (mg/dL)	< 100
Triglicérides (mg/dL)	< 150
Glicemia (mg/dL)	70 – 99
Insulina (mU/L)	2,6 - 24,9
HOMA-IR	< 3,8

4.2 Dados clínicos e hormonais dos pacientes com PPC causada por mutação no *DLK1*

O subgrupo de pacientes com PPC causada por mutação inativadora no *DLK1* foi composto por quatro pacientes provenientes da mesma família. A média da IC do início da puberdade foi 5,4 anos $\pm$ 0,8 ano e o estágio puberal ao diagnóstico do desenvolvimento mamário variou de M3 a M4 e pelos pubianos de P1 a P3, sem história de menarca. Os valores de LH em condição basal foram puberais e, todas as pacientes no subgrupo *DLK1* com média de 0,8 U/L $\pm$ 0,4 U/L e o valor médio de pico do LH nas pacientes submetidas ao teste de estímulo com GnRH/aGnRH foi 23,2 U/L $\pm$ 7,4 U/L. Os valores basais de estradiol foram puberais nas quatro pacientes do subgrupo.

Ao diagnóstico, a média de altura (DP) das pacientes do subgrupo PPC causada por mutação no *DLK1* foi 130,5 $\pm$ 5,6 (DP:1,9 $\pm$ 0,3) com um percentual de sobrepeso e obesidade ao diagnóstico de 25% /25%, respectivamente (Tabela 10). A média da idade cronológica no início do tratamento com GnRHa foi 7,2 anos $\pm$ 0,6 ano.

A média do tempo de tratamento foi 3,8 anos $\pm$ 0,5 ano e as médias das IC e IO na suspensão do tratamento foram 11 anos $\pm$ 0,3 ano e 12,2 anos $\pm$ 0,4 ano, respectivamente. A média de altura (DP) deste grupo ao final do tratamento com aGnRH foi 149,6 cm $\pm$ 1,8 cm (1 $\pm$ 0,1). O percentual de sobrepeso foi 25% (Tabela 10).

Na última avaliação, a média da IC das pacientes foi 20,9 anos $\pm$ 2,5 anos. A média da AF (DP) foi 158,3 cm $\pm$ 1,7 cm ($-0,6 \pm 0,3$) e a média da AA (DP) foi 162,4 cm $\pm$ 3,9 cm ($-0,6 \pm 0,5$), sendo que três quartos das pacientes apresentaram AF dentro do canal familiar (Figura 8) (Tabela 10, ANEXO Tabela 11).

NS: não significante ($p > 0,05$)

Figura 8 - Altura alvo (AA) e altura final (AF) do grupo de pacientes com PPC causada por mutação no gene *DLK1* tratados com aGnRH

No subgrupo de pacientes com PPC por mutação no *DLK1*, a média do IMC e do % de gordura corporal foram elevadas, $26,4 \text{ kg/m}^2 \pm 4,9 \text{ kg/m}^2$ e $40,9\% \pm 6,6\%$, respectivamente (Tabela 10). O percentual de sobrepeso e obesidade na vida adulta se manteve igual ao do momento do diagnóstico (25/25%). A avaliação longitudinal do IMC categorizado em normal, sobrepeso e obesidade nos três momentos avaliados está ilustrada na Figura 9. Não houve aumento significativo do percentual de sobrepeso e obesidade durante o tratamento com aGnRH e na vida adulta ($p > 0,05$).

Figura 9 - Evolução longitudinal de acordo com a categoria de peso corporal (normal, sobrepeso e obesidade) do grupo de pacientes com PPC por mutação no *DLK1* tratados com aGnRH

Na última avaliação, o HOMA-IR foi alterado, mostrando uma resistência insulínica em três quartos das pacientes, mas sem alteração da glicemia de jejum ou diagnóstico de diabetes. Em relação ao perfil lipídico neste grupo, o LDL foi elevado em três quartos das pacientes, as quais apresentaram o HDL baixo. Os triglicerídeos foram normais nas quatro pacientes avaliadas. Os dados de média e DP destas pacientes estão apresentados na Tabela 10 (ANEXO Tabela 12).

A média de idade da menarca foi $11,7 \text{ anos} \pm 0,5 \text{ ano}$ e o intervalo entre a suspensão do tratamento com o aGnRH e a menarca foi $0,5 \text{ ano} \pm 0,2 \text{ ano}$ (Tabela 10). Todas as pacientes referiram ciclos menstruais regulares e não foi identificado hiperinsulinismo clínico e, ou laboratorial, ou alterações ultrassonográficas sugestivas de SOP. Uma paciente referiu uma gestação espontânea, sem intercorrências e com prole saudável. As outras pacientes não manifestaram desejo de engravidar até o momento.

Tabela 10 - Dados clínicos e hormonais das pacientes com PPC causada por mutação no *DLK1* ao diagnóstico, final do tratamento com aGnRH e na altura final

	Ao diagnóstico	Ao final do tratamento	Altura final
IC (anos)*	7,2 ± 0,6	11 ± 0,3	20,9 ± 2,5
IO (anos)	9,9 ± 1,7	12,2 ± 0,4	-
IO - IC (anos)	2,8 ± 1,4	1,2 ± 0,6	-
Tempo de tratamento (anos)	-	3,8 ± 0,5	-
Altura (cm)	130,5 ± 5,6	149,6 ± 1,8	158,3 ± 1,7
Altura (DP)	1,9 ± 0,3	1 ± 0,1	-0,6 ± 0,3
AA	-	-	162,4 ± 3,9
AA (DP)	-	-	0 ± 0,7
IMC (kg/m ²)**	17,6 (16,8-20)	19 (18-21,6)	25,5 (21,5-33,1)
% sobrepeso/ %obesidade	25 / 25	25/0	25/25
% de gordura corporal	-	-	40,9 ± 6,6
LH basal (U/L)	0,8 ± 0,4	-	5,7 ± 3,6
FSH basal (U/L)	3,5 ± 1,3	-	5 ± 1,6
LH após GnRH/GnRHa (U/L)	23,2 ± 7,4	-	-
Estradiol (pg/mL)	26 ± 17,5	-	39,1 ± 28,5
Ciclos menstruais regulares (%)	-	-	100
% SOP	-	-	0

IC: idade cronológica; IO: idade óssea; AA: altura alvo; * média e DP; ** mediana e intervalo

4.3 Dados clínicos e hormonais dos pacientes com mutação ativadora no *KISS1* e *KISS1R*

A paciente com mutação ativadora no gene *KISS-1R* (p.Arg386Pro), iniciou puberdade com sete anos e foi avaliada pela primeira vez com 8,6 anos, já iniciando o tratamento com aGnRH. Na ocasião apresentava IO de 11 anos com DP de altura de 0,6. A paciente foi tratada com aGnRH durante três anos, até IC de 11,6 anos e IO de 12 anos. A AF (DP) foi 152,5 cm (-1,6) e não há dados para estimar a altura alvo por ser adotada. A menarca ocorreu aos 12,1 anos, seis meses após a suspensão do tratamento com aGnRH. A paciente referiu ciclos menstruais regulares e apresentava valores de gonadotrofinas e esteroides sexuais normais. No entanto, valores elevados de testosterona e SDHEA foram identificados. O IMC na última avaliação foi 37,9 Kg/m² (ANEXO Tabela 5).

O paciente com mutação ativadora no gene *KISS-1* (p.P74S), do sexo masculino, iniciou a puberdade com um ano e foi avaliado com 1,5 ano, tendo estabelecido o diagnóstico clínico e hormonal de PPC e iniciado o tratamento com aGnRH. Na ocasião o DP de altura foi de 0,5 ano e a IO, de 2,7 anos. O paciente foi tratado durante dez anos e a IC e IO na suspensão do tratamento foi 11,5 anos e 11 anos, respectivamente. A AF (DP) foi 166,5 cm (-1,4) e IMC de 32,8 Kg/m². A altura alvo não estava disponível. Os valores de gonadotrofinas basais na vida adulta foram normais (ANEXO Tabela 5).

4.4 Dados clínicos e hormonais dos pacientes com PPC causada pelo hamartoma hipotalâmico (PPC-HH)

4.4.1 Dados clínicos e hormonais ao diagnóstico

A média da IC de início da puberdade dos pacientes com PPC-HH foi 1,6 ano $\pm$ 0,7 ano em meninas e 1,8 ano $\pm$ 1,4 ano em meninos. A média da IO inicial foi 5 $\pm$ 3,9 em meninas e 4 $\pm$ 3,5 em meninos. O DP de altura no início do tratamento com aGnRH foi 2,3 $\pm$ 1,4 para meninas e 2 $\pm$ 1,3 para meninos com percentual de sobrepeso e obesidade de 85,6% (42,8% sobrepeso/ 42,8% obesidade) nas meninas e 42,8% (28,6% sobrepeso/ 14,3% obesidade) nos meninos (Tabela 11) (ANEXO Tabela 13).

Ao diagnóstico, o LH basal estava em valor puberal em 6/7 (85,7%) nas meninas e 5/7 (71,4%) nos meninos, e a média do pico de LH após estímulo com GnRH/aGnRH foi 53,9 $\pm$ 44,3 nas meninas e 30,8 $\pm$ 26,2 nos meninos.

A média da IC no início do tratamento com aGnRH foi 2,8 anos $\pm$ 2,2 anos nas meninas e 2,8 anos $\pm$ 2,3 anos nos meninos.

Tabela 11 - Dados clínicos e hormonais ao diagnóstico dos pacientes com PPC causada pelo hamartoma hipotalâmico (PPC-HH)

	Feminino n=7	Masculino n=7
IC no início da puberdade (anos)	1,6 ± 0,7	1,8 ± 1,4
IC no início do tratamento (anos)	2,8 ± 2,2	2,8 ± 2,3
IO inicial (anos)	5 ± 3,9	4 ± 3,5
IO - IC (anos)	2,5 ± 1,8	1,1 ± 1,7
Altura (cm)	99,7 ± 39,9	99,5 ± 20,3
Altura (DP)	2,3 ± 1,4	2 ± 1,3
% sobrepeso/ %obesidade	42,8 / 42,8	28,6 / 14,3
LH basal (U/L)	4,7 ± 4	2,2 ± 2,5
FSH basal (U/L)	ND	ND
LH após GnRH/GnRHa (U/L)	53,9 ± 44,3	30,8 ± 26,2
Estradiol (pg/mL)	28,4 ± 20,4	NA
Testosterona (ng/dL)	NA	216,7 ± 139,9

IC: idade cronológica; IO: idade óssea; ND: não disponível, NA: não avaliado

4.4.2 Dados clínicos e hormonais no final do tratamento com aGnRH

A média da duração do tratamento com aGnRH foi 7,9 anos $\pm$ 2,1 anos em meninas e 7,7 anos $\pm$ 2,4 anos em meninos. A média da IC no final do tratamento com aGnRH foi 10,7 anos $\pm$ 0,5 ano em meninas e 12,1 anos $\pm$ 1,1 ano em meninos, enquanto a média da IO no final do tratamento foi 12,2 anos $\pm$ 1 ano em meninas e 12,1 anos $\pm$ 1,4 ano em meninos. A média do DP de altura no final do tratamento foi 1 $\pm$ 1 nos homens e 1,3 $\pm$ 1,2 nas mulheres. O percentual de sobrepeso e obesidade foi 83,3% nas meninas e 28,5% nos meninos (Tabela 12) (ANEXO Tabela 14).

Tabela 12 - Dados clínicos dos pacientes com PPC causada por HH (PPC-HH) no final do tratamento com aGnRH

	Feminino n=7	Masculino n=7
Tempo de tratamento (anos)	7,9 $\pm$ 2,1	7,7 $\pm$ 2,4
IC (anos)	10,7 $\pm$ 0,5	12,1 $\pm$ 1,1
IO (anos)	12,2 $\pm$ 1	12,1 $\pm$ 1,4
IO-IC (anos)	1,7 $\pm$ 1	0,3 $\pm$ 1
Altura (cm)	147,5 $\pm$ 6,5	153,8 $\pm$ 6,8
Altura (DP)	1,3 $\pm$ 1,2	1 $\pm$ 1
% sobrepeso/ %obesidade	0 / 85,7	14,3 / 14,3

IC: idade cronológica; IO: idade óssea

4.4.3 Dados clínicos e hormonais na altura final

4.4.3.1 Aspectos antropométricos

Na última consulta médica, a média da IC dos pacientes do sexo feminino e masculino foi $24,5 \pm 3,8$ e $21,5 \pm 3,2$ anos, respectivamente. O intervalo entre a interrupção do tratamento com aGnRH e a última visita foi $13,6 \text{ anos} \pm 3,6 \text{ anos}$ para as mulheres e $9,6 \text{ anos} \pm 3,6 \text{ anos}$ para os homens (Tabela 13).

Onze dos 14 pacientes (6 do sexo masculino e 5 do sexo feminino) atingiram a altura final. Considerando apenas os pacientes que atingiram a AF, o crescimento linear médio pós-tratamento foi $22,1 \text{ cm} \pm 6,1 \text{ cm}$ e $12,3 \text{ cm} \pm 2 \text{ cm}$ nos homens e mulheres, respectivamente. A média da altura final (DP) foi $174,5 \text{ cm} \pm 6,9 \text{ cm}$ (-1,6 a +1,3) em homens e $162,5 \text{ cm} \pm 5 \text{ cm}$ (-1,4 a +1,1) em mulheres. Todos os pacientes atingiram a AF dentro do intervalo da altura alvo. Os três pacientes não incluídos apresentaram estatura predita dentro do intervalo da AA na última visita. A comparação entre a AF e AA não revelou diferença estatisticamente significativa em ambos os sexos ($p > 0,05$; Figura 10) (ANEXO Tabela 14).

Figura 10 - Altura alvo e altura final das mulheres e homens no grupo de pacientes com PPC causada pelo HH tratados com aGnRH ($p > 0,05$).

Na idade adulta, 4/5 mulheres (80%) apresentavam sobrepeso ou obesidade enquanto os homens apresentaram peso adequado para altura. O percentual de sobrepeso e obesidade ao diagnóstico, ao fim do tratamento e na vida adulta em ambos os sexos não foi estatisticamente diferente e está apresentado nas Figuras 11 e 12. No sexo masculino, o percentual de sobrepeso e obesidade reduziu-se ao longo do tempo e, na vida adulta, todos os homens apresentaram peso adequado para sua altura. De forma interessante, a média do IMC no final do tratamento foi significativamente menor nos homens quando comparado ao sexo feminino ($20,7 \text{ kg/m}^2 \pm 1,9 \text{ kg/m}^2$ e $31 \text{ kg/m}^2 \pm 5,4 \text{ kg/m}^2$; $p < 0,001$). O percentual médio de massa gorda corporal nos homens ($n=5$) foi $8,5\% \pm 4,5\%$ (VR: 10%-20%) e nas mulheres ($n=4$) foi $39,3\% \pm 4,3\%$ (VR: 18%-28%) (Tabela 12).

Figura 11 - Evolução longitudinal de acordo com a categoria de IMC (normal, sobrepeso e obesidade) do grupo de mulheres com PPC-HH tratadas com aGnRH.

Figura 12 - Evolução longitudinal de acordo com a categoria de IMC (normal, sobrepeso e obesidade) do grupo de homens com PPC-HH tratados com aGnRH

Tabela 13 - Dados clínicos dos pacientes com PPC causada por HH (PPC-HH) na altura final

	Feminino n=5	Masculino n=6
IC (anos)	24,5 ± 3,8	21,5 ± 3,2
Idade da menarca (anos)	12,3 ± 1,4	-
Intervalo suspensão - menarca	1,6 ± 0,9	-
Crescimento pós-tratamento (cm)	12,3 ± 2	22,1 ± 6,1
AA (cm)	158,4 ± 2,9	171,2 ± 5,8
AA (DP)	- 0,6 ± 0,5	- 0,6 ± 0,9
AF (cm)	162,5 ± 5	174,5 ± 6,9
AF (DP)	0 ± 0,8	0 ± 0,9
IMC (Kg/m²)	31 ± 5,4	20,7 ± 1,9
% sobrepeso/% obesidade	20 / 60	0
% Gordura corporal ★	39,3 ± 4,3	8,5 ± 4,5

IC: idade cronológica; AA: altura alvo; AF: altura final; ★ % gordura corporal VR: F: 18%-28% M: 10%-20%.

4.4.3.2 Avaliação neurológica dos pacientes com PPC-HH na vida adulta

Em relação à avaliação neurológica dos pacientes com PPC-HH, dois pacientes do sexo masculino e uma mulher apresentaram epilepsia generalizada e estão em uso de medicações antiepiléticas. Apenas uma paciente do sexo feminino apresentou convulsões progressivas, não controladas com medicamento, que inicialmente eram gelásticas (crises de riso imotivado), evoluindo para convulsões focais e generalizadas. Esta paciente foi submetida a tratamento cirúrgico (ablação por radiofrequência), sem resolução completa das convulsões. Até o momento, esta paciente não apresenta controle adequado das convulsões, mesmo sob uso de agentes antiepiléticos.

4.4.3.3 Aspectos metabólicos

A hipercolesterolemia com altos níveis de LDL foi identificada em um homem (16,6%) e em três mulheres (60%). A resistência insulínica foi identificada em uma mulher (Tabela 13). Diabetes e hipertensão não foram observados nesta coorte (ANEXO Tabela 15).

4.4.3.4 Aspectos reprodutivos

O intervalo médio entre a interrupção do tratamento com aGnRH e a ocorrência de menarca espontânea foi de 1,6 ano $\pm$ 0,9 ano (0,5 ano a 3,2 anos). A média da IC de menarca foi 12,3 anos $\pm$ 1,4 ano (11,2 anos a 15 anos). Todas as mulheres informaram ciclos menstruais regulares e não

foram identificadas evidências clínicas ou laboratoriais de hiperandrogenismo. As análises hormonais transversais realizadas na última consulta revelaram valores basais de LH, FSH, estradiol, androstenediona e DHEA-S em mulheres e testosterona total em ambos os sexos dentro do intervalos de referência normal para cada sexo. A ultrassonografia pélvica demonstrou volumes normais de útero e ovário em todas as mulheres. O volume uterino médio foi $59 \text{ cm}^3 \pm 21 \text{ cm}^3$ e os volumes ovarianos direito e esquerdo foram $5,8 \text{ cm}^3 \pm 2,7 \text{ cm}^3$ e $7,2 \text{ cm}^3 \pm 2,9 \text{ cm}^3$, respectivamente. Apenas uma paciente preenchia critérios ultrassonográficos para síndrome dos ovários policísticos (volume de ovário $> 10 \text{ ml}$) e nenhuma preencheu critérios para diagnóstico de SOP. Os níveis de progesterona foram avaliados em todas as mulheres na fase lútea e com nível ovulatório em todas ($10 \text{ ng/mL} \pm 3,5 \text{ ng/mL}$) (Tabela 14). Três pacientes do sexo masculino referiram paternidade, sem intercorrências e com prole saudável.

Tabela 14 - Dados hormonais e metabólicos dos pacientes com PPC-HH na altura final

	Feminino n=5	Masculino n=6
LH (U/L)	4,9 ± 2,5	5,1 ± 2,7
FSH (U/L)	4,6 ± 0,7	3,7 ± 1,7
E₂ (pg/mL)	78,5 ± 44,1	-
Testosterona (ng/dL)	18,9 ± 11,4	655,7 ± 216,4
DHEA-S (ng/mL)	1233 ± 592,8	-
Δ4 (ng/mL)	1,7 ± 0,8	-
Progesterona (ng/mL)	10 ± 3,5	-
Ciclos menstruais regulares (%)	100	-
% SOP	0	-
Colesterol total (mg/dL)	189,4 ± 43,6	119,8 ± 23,3
HDL (mg/dL)	62,8 ± 7,6	42,6 ± 5,6
LDL (mg/dL)	110,4 ± 35,1	68,8 ± 22,6
Triglicérides (mg/dL)	81,2 ± 23,6	42,8 ± 7,1
Glicemia (mg/dL)	87,4 ± 4,6	83,8 ± 10,6
Insulina (mU/L)	15,6 ± 6,1	4,3 ± 2,2
HOMA-IR	3,3 ± 1,2	0,9 ± 0,5

4.5 Comparação dos parâmetros antropométricos, metabólicos e reprodutivos entre pacientes tratadas com análogos de GnRH de uso mensal e trimestral

As quarenta e três pacientes do grupo PPCI foram agrupadas de acordo com a formulação de aGnRH recebida durante o tratamento: grupo tratado com aGnRH mensal (n= 21) e grupo tratado com aGnRH trimestral (n=22). No grupo tratado com aGnRH trimestral, 4/22 (18,2%) receberam tratamento com a posologia mensal e posteriormente migraram para a posologia trimestral, fazendo a maior parte do tratamento nesta última dose. Os dados estão apresentados na Tabela 15.

As médias das IC do início da puberdade foram similares em ambos os grupos, 6 anos $\pm$ 1,5 ano e 6,6 anos $\pm$ 1 ano nos grupos tratados com aGnRH mensal e trimestral, respectivamente. No início do tratamento, as médias de IC e IO foram 8,3 anos $\pm$ 1,3 ano e 10,4 anos $\pm$ 1,4 ano no grupo mensal e 8,3 anos $\pm$ 0,9 ano e 10,6 anos $\pm$ 1 ano no grupo trimestral, respectivamente. As médias de DP da altura no início do tratamento foram 1,7 $\pm$ 1,3 e 1,6 $\pm$ 0,8, nos grupos mensal e trimestral, respectivamente. O percentual de sobrepeso e obesidade foi significativamente maior no grupo aGnRH mensal (57,1%) comparado ao grupo aGnRH trimestral (33,3%) ($p < 0,05$).

O tempo médio do tratamento com aGnRH foi 2,5 anos $\pm$ 1,2 ano e 2,8 anos $\pm$ 0,8 ano nos grupos mensal e trimestral, respectivamente ($p=0,33$). As médias de IC e IO na suspensão do tratamento com aGnRH

foram significativamente menores no grupo tratado com aGnRH mensal (10,8 anos $\pm$ 0,5 ano e 12,5 anos $\pm$ 0,7 ano no grupo mensal e 11,1 anos $\pm$ 0,4 ano e 12,1 anos $\pm$ 0,6 ano no grupo trimestral, respectivamente) ($p=0,002$ e $p=0,05$). A média da AF (DP) das pacientes tratadas com aGnRH 3,75 mg foi 159,5 cm $\pm$ 6,3 cm (-0,5 $\pm$ 0,9) e nas pacientes tratadas com aGnRH 11,25 mg, 163,2 cm $\pm$ 6,2 cm (0,2 $\pm$ 1). As médias da AA (DP) foram 159,5 cm $\pm$ 6,3 cm (-0,5 $\pm$ 0,9) e 163,2 cm $\pm$ 6,2 cm (-0,5 $\pm$ 1), nos grupos mensal e trimestral, respectivamente. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias da AF e da AA ($p>0,05$).

Na avaliação longitudinal, maior prevalência de sobrepeso e obesidade foi identificada no grupo tratado com aGnRH mensal desde o diagnóstico até a idade adulta (Tabela 15). No grupo mensal, houve aumento marginalmente significativo do percentual de sobrepeso e obesidade desde o diagnóstico até o final do tratamento com aGnRH (57% vs. 70%, $p=0,056$) e redução significativa do percentual de sobrepeso e obesidade do final do tratamento até a última avaliação ($p=0,001$). O grupo tratado com aGnRH trimestral apresentou redução não significativa do percentual de sobrepeso e obesidade durante o tratamento. Na última avaliação, o percentual de sobrepeso e obesidade foi significativamente menor em relação ao início do tratamento ($p=0,04$).

Entre os dois grupos, houve diferença estatisticamente significativa do percentual de sobrepeso e obesidade em todos os momentos, e também do percentual de gordura corporal na última avaliação, superior no grupo mensal ($p=0,005$).

Hipercolesterolemia (aumento de LDL) foi identificada em uma paciente tratada com aGnRH mensal e em duas do grupo trimestral, e somente uma paciente tratada com a formulação mensal apresentou hipertrigliceridemia. Resistência insulínica foi confirmada em duas pacientes do grupo tratado com aGnRH mensal e em três do grupo trimestral.

O intervalo entre o final do tratamento e a ocorrência da menarca foi semelhante em ambos os grupos (1 ano $\pm$ 0,5 ano e 1,2 ano $\pm$ 0,5 ano no grupo mensal e no trimestral, respectivamente) ($p=0,52$). Entretanto, a média de idade de menarca das pacientes do grupo mensal foi significativamente menor comparada à do grupo trimestral, 11,8 anos $\pm$ 0,6 ano *versus* 12,2 anos $\pm$ 0,5 ano, respectivamente ($p=0,02$). O percentual de irregularidade menstrual foi mais elevado no grupo tratado com aGnRH trimestral (19%) comparado ao grupo mensal (16,6%), porém não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Na última avaliação, os valores basais de gonadotrofinas e estradiol estavam normais em todos os pacientes. Duas pacientes (uma em cada grupo) preencheram os critérios clínicos e laboratoriais para diagnóstico de SOP (utilizando os critérios de Rotterdam).

Tabela 15 - Comparação entre os dados dos pacientes com PPC tratados com a formulação mensal (3,75 mg) e trimestral (11,25 mg) do aGnRH ao diagnóstico, no final do tratamento e na vida adulta

	Grupo 3,75 mg n= 21	Grupo 11,25 mg n= 22	<i>p</i>
Ao diagnóstico			
IC no início da puberdade (anos) [#]	6,1 ± 1,5	6,6 ± 1	0,16
IC no início do tratamento (anos)	8,3 ± 1,3	8,3 ± 0,9	0,91
IO no início do tratamento (anos)	10,4 ± 1,4	10,6 ± 1	0,61
Altura (cm)	135,6 ± 9,2	135,6 ± 7	1,0
Altura (DP)	1,7 ± 1,3	1,6 ± 0,8	0,76
IMC (Kg/m ²) **	18,7 (14,5-22,6)	17,5 (12,2 - 21,9)	0,04
% sobrepeso/ obesidade	57,1 (23,8/33,3)	33,3 (19/14,3)	0,001
No final do tratamento			
Tempo de tratamento (anos)	2,5 ± 1,2	2,8 ± 0,8	0,33
IC (anos)	10,8 ± 0,5	11,1 ± 0,4	0,002
IO (anos)	12,5 ± 0,7	12,1 ± 0,6	0,05
Altura (cm)	149,9 ± 5,6	152,3 ± 5,4	0,18
Altura (DP)	1,3 ± 1,2	1,3 ± 0,9	0,91
IMC (Kg/m ²)	21,1 (16 - 30)	19,8 (15,5 - 24,9)	0,13
% sobrepeso/ obesidade	70 (40/30)	27,3 (4,5/22,7)	< 0,001
Na idade adulta			
IC da última avaliação	17,7 ± 4,3	15,3 ± 1,3	0,02
Idade menarca (anos)	11,8 ± 0,6	12,2 ± 0,5	0,02
Intervalo suspensão - menarca	1 ± 0,5	1,2 ± 0,5	0,52
Irregularidade menstrual (%)	16,6	19	0,85
Crescimento pós-tratamento (cm)	9,5 ± 3,7	10,7 ± 2,7	0,23
Altura final (cm)	159,5 ± 6,3	163,2 ± 6,2	0,06
Altura final (DP)	- 0,5 ± 1	0,2 ± 1	0,05
AA (cm)	159,1 ± 5,3	158,9 ± 6,3	0,92
AA (DP)	-0,5 ± 0,9	- 0,5 ± 1	0,89
Δ AF - AA (DP)	0 ± 0,8	0,7 ± 1,2	0,06
IMC (Kg/m ²)	24,7 (18,2 - 31)	21,7 (17,4 - 27,3)	0,05
% sobrepeso/ obesidade	47,6* (42,8/4,8)	19* (19/0)	0,00005
% Gordura corporal	36,5 ± 6,6	29,3 ± 5,1	0,005

[#]: média e DP; **: mediana e intervalo; * *p* < 0,05 - no grupo aGnRH mensal, em relação ao % sobrepeso e obesidade no final do tratamento e no grupo aGnRH trimestral, em relação ao % sobrepeso e obesidade ao diagnóstico.

4.6 Aspectos psicossociais de pacientes com PPC tratados com aGnRH

Os questionários de avaliação psicossocial foram aplicados em 37 pacientes (33F:4M), sendo 28 pacientes com PPC idiopática, 2 com PPC genética e 7 com PPC causada pelo HH (3F:4M).

Para o quesito religião, 32/37 (86,5%) dos pacientes informaram ter uma prática religiosa (40,5% católicos; 37,8% evangélicos; 2,7% kardecistas; 2,7% adventistas). O grau de escolaridade informado distribuiu-se em fundamental incompleto 10,8%; fundamental completo 16,2%; ensino médio incompleto 32,4%; ensino médio completo 18,9%; superior incompleto 13,5%; superior completo 8,1%. Até o final da aplicação do questionário, 61,1% dos pacientes estudavam, 11,1% trabalhavam, 19,5% trabalhavam e estudavam e 8,3% não exerciam atividades profissionais.

A maioria dos pacientes (88,9%) informou amizade com indivíduos da mesma idade e 88,9% não referiram dificuldade em fazer amigos.

A média da idade referida da primeira relação sexual no sexo feminino foi 15,8 anos, variando de 13 anos a 19 anos; no sexo masculino foi 15,5 anos, variando de 14 anos a 17 anos. A média da idade do/a parceiro/a foi 18,7 anos e 23,7 anos para as meninas e meninos, respectivamente. A primeira relação sexual foi com o namorado/a em 56,3% dos entrevistados e 43,7% informaram ter sido com outro tipo de relacionamento. A primeira relação sexual foi planejada por 66,7% das mulheres e por 75% dos homens. O uso de contraceptivos (preservativo e, ou contraceptivo oral) foi relatado por 75% das mulheres e 25% dos homens.

O número de parceiros no último ano variou de 0 a 4 para as mulheres e 1 a 5 para os homens. Seus parceiros eram mais novos em 12,6% das mulheres, enquanto 43,7% referiram parceiros da mesma idade e 43,7% informaram parceiros mais velhos. Em relação aos homens, 25% informaram relacionamento com parceiras mais novas, 25% com parceiras da mesma idade e 50% com parceiras mais velhas.

O uso de álcool foi relatado por 19/37 pacientes (51,3%), e quatro referiram somente uso experimental. Dois pacientes descreveram uso de tabaco, um deles apenas uso experimental. O consumo de maconha foi relatado por dois pacientes, um somente experimental, e o uso de tranquilizantes foi referido por dois pacientes. Todos negaram uso de cocaína ou outras substâncias psicoativas.

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

Nos últimos trinta anos, os efeitos do tratamento da PPC com aGnRH em curto e longo prazo foram relatados e amplamente discutidos na literatura (33, 55). Entretanto, devido à heterogeneidade das casuísticas, os desfechos são controversos e algumas questões continuam inconclusivas, tais como o benefício do tratamento sobre a altura final nas pacientes com PPC tratadas após os seis anos de idade cronológica, o impacto do tratamento com aGnRH sobre a composição corporal, a prevalência de SOP nesta população, bem como a diferença de efeitos em longo prazo entre pacientes tratados com posologias mensais e trimestrais ^(37, 41). Uma coorte histórica composta de pacientes com PPC que não foram tratados é descrita em alguns estudos, evidenciando as consequências e a história natural da PPC (46, 49, 50, 75).

O avanço nas pesquisas genéticas tem permitido a identificação de mutações em genes associados à puberdade precoce, resultando em novo subgrupo etiológico que denominamos PPC genética ou monogênica, anteriormente classificada como "idiopática" (5, 15–17). Dois genes, *MKRN3* e *DLK1*, localizados em regiões de *imprinting* materno, sendo de transmissão paterna, representam as principais causas de PPC monogênica. As apresentações clínica e laboratorial dos pacientes com PPC por mutação inativadora no *MKRN3*, a causa monogênica mais prevalente de PPC, foram descritas em casos de PPC familiar e aparentemente esporádicos. Os

desfechos em longo prazo nesse subgrupo de pacientes tratados com aGnRH ainda não foram sistematicamente descritos na literatura. O subgrupo de pacientes com PPC por mutação no *DLK1* constituiu um grupo de interesse particular pela associação com fenótipos metabólicos desfavoráveis (5, 22). É importante ressaltar que este subgrupo de PPC causada pela mutação no *MKRN3* foi constituído, também, por pacientes provenientes de outros centros acadêmicos e serviço privado, encaminhados para estudo genético.

Quanto à PPC de causa orgânica, os dados de seguimento em longo prazo de pacientes com PPC causada pelo HH, causa orgânica mais conhecida de PPC, após a suspensão do tratamento com aGnRH, raramente foram relatados (76, 77). Nesta pesquisa, analisamos as características antropométricas, metabólicas e reprodutivas de 14 pacientes com PPC-HH, acompanhados desde o diagnóstico na Unidade de Endocrinologia do Desenvolvimento da Divisão de Endocrinologia e Metabologia da FMUSP. A manifestação inicial de sinais puberais ocorreu tipicamente em uma idade muito precoce, abaixo dos quatro anos, como esperado na PPC-HH, resultando no subgrupo que teve tempo mais longo de tratamento com aGnRH, comparado aos grupos PPCI e PPC monogênica (77).

No presente estudo, os pacientes foram classificados de acordo com a etiologia da PPC: idiopática, genética e causada pelo hamartoma hipotalâmico, com o intuito de realizar uma avaliação retrospectiva e longitudinal dos desfechos antropométricos, metabólicos, reprodutivos e

psicossociais em cada grupo. Todos os pacientes foram tratados exclusivamente com aGnRH de posologia mensal ou trimestral.

Valadares e cols. analisaram 22 estudos que incluíram 880 pacientes com PPC numa revisão sistemática e metanálise (19). Oitenta e nove pacientes (76 meninas) apresentaram defeitos no *MKRN3* (19). Na análise comparativa de dados clínicos e bioquímicos entre meninas e meninos, os autores identificaram diferenças significativas nos parâmetros clínicos (idade de início puberal, idade de diagnóstico) e hormonais (FSH basal). Em nosso estudo, comparamos dados entre pacientes do sexo feminino com e sem mutações no *MKRN3*. A média da idade cronológica do início da puberdade não diferiu entre os grupos com PPCI e PPC causada pela mutação no *MKRN3*, em concordância com o estudo de Macedo e cols (20). Em contraste, Simon e cols. (18) demonstraram que as meninas com PPC por mutação no *MKRN3* eram mais jovens no início da puberdade do que aquelas sem mutação (18). Macedo DB e cols.. (20) encontraram valores mais elevados de FSH basal em meninas com mutações no *MKRN3* em comparação àquelas sem mutação, o que não foi confirmado nesta coorte maior de pacientes com PPC por mutação no *MKRN3* (20). No presente estudo, não foram identificados parâmetros clínicos ou laboratoriais ao diagnóstico que diferenciaram pacientes com PPCI daqueles com PPC causada por mutação no *MKRN3*.

A história familiar de puberdade precoce foi positiva em todos os pacientes com PPC de causa genética e em 25,6% dos pacientes com

PPCI, sugerindo que outros defeitos genéticos possam estar envolvidos na etiologia da PPC.

Uma das limitações deste estudo foi a ausência de um grupo controle constituído de pacientes com PPC não tratados, impossibilitando diferenciar os desfechos que foram decorrentes da própria puberdade precoce daqueles decorrentes do efeito do tratamento com aGnRH.

Os desfechos após o tratamento da PPC com aGnRH estão discutidos separadamente.

5.1 Altura final

A preservação do potencial genético da altura final é um dos objetivos almejados no tratamento dos pacientes com PPC (42, 45, 48, 49). Diversos trabalhos na literatura demonstraram que o tratamento com aGnRH preserva a altura final em pacientes com PPC, especialmente se diagnosticados e tratados antes dos seis anos de idade, embora o benefício real em termos de altura final ainda seja controverso em pacientes com início de puberdade e tratamento entre seis anos e oito anos de idade (40) e nenhum tenha sido demonstrado em pacientes tratados após os oito anos (33, 41).

Vários estudos indicaram fatores relacionados à aquisição de altura adulta normal em pacientes com PPC tratados com aGnRH (13, 33, 41, 42, 49). Alguns fatores que influenciaram positivamente este desfecho foram: menor idade cronológica do início da PPC e do tratamento, menor avanço da IO ao diagnóstico, maior duração do tratamento, maior altura alvo e maior

desvio-padrão da altura no início e final do tratamento (13, 33, 41, 42, 49). Por outro lado, o retardo no início do tratamento, maior avanço da IO e o menor desvio-padrão da altura no início e final do tratamento, bem como a menor estatura alvo impactaram negativamente a altura final (41).

No grupo PPCI, apenas 1/43 paciente atingiu a altura final abaixo do intervalo da altura alvo. Embora a média da idade cronológica do início do tratamento no grupo PPCI tenha sido elevada, o benefício do bloqueio puberal em preservar a altura final foi evidenciado mesmo nas pacientes tratadas após os seis anos. Os fatores preditivos de altura final normal identificados na análise univariada foram o maior DP da altura no início e fim do tratamento, a maior altura alvo, menor IC no fim do tratamento e maior crescimento pós-tratamento. A IC no início do tratamento com aGnRH não influenciou a aquisição de altura final normal.

No subgrupo com PPC causada por mutações no *MKRN3*, a AF dentro do intervalo da AA foi atingida por oito das nove os pacientes que tinham a AA disponível. Não foi possível descartar que os pais portadores da mutação no *MKRN3* desenvolveram PPC, o que hipoteticamente poderia influenciar de forma negativa a AA. Os resultados do tratamento com aGnRH sobre a AF foram semelhantes em ambos os grupos, PPCI e PPC causada por mutação no *MKRN3*. Este trabalho representa o primeiro relato de AF de pacientes com PPC por mutações no *MKRN3* tratadas com aGnRH, e os resultados sugeriram que mutações no *MKRN3* não influenciam a eficácia do tratamento sobre a AF.

Em nosso estudo, três quartos dos pacientes com PPC causada por mutação no *DLK1* alcançaram AF dentro do intervalo da AA e uma paciente ficou abaixo do canal familiar. Gomes *et al.* (22) descreveram três pacientes com PPC causada por mutação no *DLK1* que não foram tratadas, cuja média (DP) de AF foi $143,8 \text{ cm} \pm 62,3 \text{ cm}$ ($-3,3 \pm 1,5$) (22). Desta forma, inferimos que o tratamento da PPC por mutação no *DLK1* apresenta eficácia similar em relação aos demais grupos, mas ampliação deste subgrupo contribuirá para confirmar esta observação.

Os dois pacientes portadores de mutação ativadora no sistema KISS1/KISS1R tratados com a GnRH foram seguidos até a vida adulta. No entanto, a escassez de dados familiares e a raridade de tais defeitos genéticos tornaram limitada a análise da eficácia do tratamento, assim como os efeitos nos parâmetros antropométricos.

No grupo PPC-HH, as manifestações clínicas iniciais dos sinais puberais geralmente ocorreram em uma idade precoce, como esperado na PPC causada pelo HH, levando ao início precoce do tratamento com aGnRH. De fato, todos os pacientes tiveram supressão clínica e hormonal adequada do desenvolvimento puberal. A boa adesão, a maior duração do tratamento e a idade cronológica e óssea adequada pela interrupção do GnRHa contribuíram para a obtenção de AF dentro da faixa de AA em ambos os sexos, em todos os pacientes.

5.2 IMC, percentual de gordura corporal e avaliação metabólica

Vários estudos especulam a associação entre peso corporal e PPC; entretanto, não está estabelecido se excesso de peso influencia a ocorrência de precocidade sexual ou se sobrepeso e obesidade seriam consequência (33, 41, 46, 79). A influência do tratamento da PPC com aGnRH sobre o IMC e a composição corporal permanecem controversos (47, 55, 56).

Nosso estudo demonstrou percentual elevado de sobrepeso e obesidade ao diagnóstico da PPC em todos os grupos do sexo feminino, sendo maior nas pacientes com HH. Na avaliação final, os percentuais de sobrepeso e obesidade reduziram-se significativamente nos grupos PPCI (50% ao diagnóstico vs. 33,4% na última avaliação), PPC causada por mutação no *MKRN3* (47,3% ao diagnóstico vs. 27,2% na última avaliação) e PPC-HH no sexo masculino (42,9% ao diagnóstico vs. 0% na última avaliação). Uma redução não significativa no percentual de sobrepeso e obesidade foi observada nas pacientes com PPC-HH do feminino (85,6% ao diagnóstico vs. 80% na última avaliação) e se manteve semelhante no grupo com PPC causada por mutação no *DLK1* (50% tanto ao diagnóstico quanto na última avaliação). Este resultado está em concordância com os dados de Lazar e col. (45) e Palmert e col. (78) que demonstraram que o tratamento com aGnRH não aumentou o percentual de sobrepeso e obesidade nas pacientes com PPC tratadas com aGnRH (46, 79). Lazar e col. (45) compararam os grupos de mulheres com PPC tratadas e não tratadas com aGnRH da terceira à quinta década de vida com população pareada para a mesma idade sem PPC; não encontraram diferença significativa no IMC na vida adulta para os três grupos, sugerindo que a PPC (tratada ou não

tratada) não esteja associada ao aumento do risco de obesidade na idade adulta jovem.

Um estudo Koreano incluiu 67 meninas com PPC tratadas com aGnRH e descreveu prevalência elevada de sobrepeso e obesidade (40,3% / 23,4%) no início da puberdade sem alteração significativa do IMC durante o período de tratamento com aGnRH (54). No entanto, quando estratificado de acordo com o IMC basal, o grupo com peso normal antes do tratamento mostrou um aumento significativo no Z-IMC, enquanto o grupo com sobrepeso não apresentou alteração no Z-IMC, sugerindo que o tratamento com aGnRH possa ter diferentes efeitos na evolução do IMC, dependendo do perfil inicial (54). Resultados semelhantes foram descritos por um estudo argentino que avaliou 60 pacientes (55). Neste trabalho, as pacientes com PPCI apresentaram redução no percentual de sobrepeso e obesidade na vida adulta. Assim como nos dois estudos acima, na nossa avaliação as pacientes que apresentaram IMC adequado no início da puberdade tiveram uma tendência de aumento do IMC após o tratamento e, naquelas que inicialmente apresentavam sobrepeso e obesidade, uma tendência de redução do IMC. A avaliação longitudinal da composição corporal não foi realizada em nosso trabalho, porém o percentual de gordura corporal nas pacientes avaliadas após o tratamento com aGnRH foi elevado, independentemente da etiologia da PPC no sexo feminino, sendo maior no grupo de pacientes com PPC causada por mutação no *DLK1*.

Curiosamente, nos pacientes com PPC-HH observamos um padrão de comportamento do IMC e da composição corporal sexo-dependente,

principalmente após o tratamento com aGnRH (77). As pacientes do sexo feminino apresentaram maior prevalência de sobrepeso e obesidade no início e no final do tratamento com aGnRH e na idade adulta, avaliadas tanto pelo IMC quanto pelo percentual da massa gorda corporal (77). Da mesma forma, Feuillan e cols. (75) relataram maior IMC em mulheres com PPC causada pelo HH (n = 18) em comparação com pacientes com PPC idiopática (n = 32) após o tratamento com aGnRH. No entanto, a composição corporal não foi avaliada naquele estudo. No nosso estudo, a história familiar de obesidade foi relatada somente por 6/7 pacientes do sexo feminino. Portanto, a especulação de que HH *per se* exerça papel potencial na fisiopatologia da obesidade é tentadora, mas não há evidências para apoiá-la. Além disso, o aumento do percentual de massa gorda total demonstrado por alguns estudos reforça o efeito desfavorável do aGnRH na composição corporal em pacientes com PPC idiopática (41, 47, 80). Nos pacientes do sexo masculino, o sobrepeso e a obesidade foram encontrados em apenas dois dos sete pacientes com PPC-HH, tanto no início quanto no final do tratamento com aGnRH. Na última avaliação, todos os pacientes do sexo masculino apresentavam IMC normal e percentual de massa gorda corporal normal ou baixa. Feuillan e cols. (76) também encontraram menor frequência de obesidade em pacientes do sexo masculino com PPC-HH. O motivo desse dimorfismo sexual ainda é desconhecido e deve ser explorado em coortes maiores. Como esperado, o perfil metabólico adverso de nossos pacientes, principalmente a hipercolesterolemia, foi prevalente nas mulheres e estaria relacionado ao alto índice de IMC e à massa corporal gorda

anormal. Todos os outros parâmetros metabólicos nos pacientes com PPC-HH, como a intolerância à glicose, foram normais, exceto em uma paciente do sexo feminino que apresentava resistência à insulina.

Lazar e cols. (45) descreveram recentemente prevalência semelhante de alterações metabólicas (hiperlipidemia, diabetes e hipertensão) na vida adulta em pacientes com PPCI tratadas, não tratadas e em controles pareados para idade e sexo (16%, 21,4% e 13,4% a 24,6%, respectivamente) (45). No nosso estudo, a prevalência de alterações metabólicas no grupo PPCI e PPC por mutação no *MKRN3* foram semelhantes ao reportado por Lazar e cols. (45) e maior nos grupos com PPC por mutação no *DLK1* e PPC-HH do sexo feminino, sendo que estes dois grupos apresentaram maior IMC na altura final.

Alguns trabalhos em animais e *in vitro* demonstraram que o *DLK1* tem uma função inicial na adipogênese, impedindo a diferenciação dos adipócitos (21, 81, 82). Desta forma, nos camundongos nocaute para *DLK1* foi visto um ganho de peso acelerado e hiperlipidemia na idade adulta, sustentando o efeito de sua ação antiadipogênica. Gomes L e cols. descreveram dez mulheres adultas com PPC secundária à mutação no *DLK1*, tratadas (n=4) e não tratadas (n=6) com aGnRH e encontraram maior prevalência de baixa estatura (30%), sobrepeso e obesidade (60%), hiperlipidemia (50%), resistência à insulina (70%) e diabetes *mellitus* tipo 2 (30%), quando comparadas a 20 pacientes com PPCI tratadas com aGnRH, sugerindo que este fator antiadipogênico represente um novo elo entre puberdade e metabolismo (22). A avaliação em longo prazo das pacientes

com PPC por mutação inativadora no *DLK1* reforça a associação dessa mutação genética com maior prevalência de sobrepeso e obesidade e alterações metabólicas neste subgrupo. As quatro pacientes incluídas neste trabalho são as pacientes tratadas incluídas no estudo de Gomes L e *coll.* (22).

5.3 Função reprodutiva e síndrome do ovário policístico

A avaliação da função reprodutiva na vida adulta nos pacientes tratados com aGnRH é objeto de pesquisas na literatura (33, 41). No presente estudo, o intervalo entre a descontinuação do tratamento com aGnRH e a menarca foi de 0 a 40 meses e está em concordância ao já descrito na literatura (média de 1,1 ano $\pm$ 0,4 ano, variando de 0 a 62 meses) (40).

Pasquino e cols. (48) demonstraram que a prevalência de ciclos menstruais regulares variou de 70% a 96% em 87 pacientes com PPC idiopática tratadas com aGnRH, do primeiro ano a seis anos pós-menarca, respectivamente (48). *Jay e cols.* (82) descreveram que a prevalência de ciclos menstruais regulares aumentou ao longo do tempo, ocorrendo em 41% das pacientes no primeiro ano após a menarca e em 65% após três ou mais anos após a menarca (82). No presente estudo, ciclos menstruais regulares foram referidos por 81,9%, 81,8%, 100% e 100% das mulheres dos grupos PPCI, PPC por mutação no *MKRN3*, PPC por mutação no *DLK1* e PPC-HH, respectivamente.

A relação entre a PPC e, ou seu tratamento com a prevalência de hiperandrogenismo e SOP é controversa na literatura (40). A hipótese de que a reativação prematura do eixo gonadotrófico seria um dos mecanismos fisiopatológicos da SOP poderia ser confirmada pela maior incidência desta patologia nas pacientes com PPC (57). No entanto, a prevalência de SOP em mulheres que apresentaram PPC e que foram tratadas com aGnRH é extremamente variável na literatura (2% - 32%), devido à heterogeneidade das casuísticas e aos diferentes critérios utilizados para o diagnóstico de SOP (58, 59). A avaliação reprodutiva das pacientes com PPC tratadas com aGnRH demonstrou baixa prevalência de hiperandrogenismo clínico e laboratorial e SOP em todos os grupos etiológicos. Lazar e cols.. (49) demonstraram numa coorte de pacientes com PPC tratadas com aGnRH, não tratadas e controles pareados, que o risco relativo de desenvolvimento de hiperandrogenismo clínico com menstruações irregulares foi maior no grupo não tratado comparado ao grupo tratado (49). Esses dados sugerem que o bloqueio puberal pode reduzir o risco de SOP iminente. Além disso, a etiologia da PPC parece não interferir nos desfechos reprodutivos desfavoráveis. Em relação à gestação, as pacientes que apresentaram desejo de engravidar, engravidaram espontaneamente e tiveram gestação sem intercorrência e com prole saudável. As pacientes do subgrupo PPC causada por mutação no *DLK1* tratadas com aGnRH não preenchem os critérios para diagnóstico de SOP. Por outro lado, no trabalho de Gomes L e cols.. (22) que incluiu dez pacientes com PPC causada por mutação no *DLK1*, sendo seis não tratadas ou com tratamento irregular, a prevalência de

SOP foi maior quando comparada a um grupo de 20 pacientes com PPCI (20% vs.10%). Este dado sugere que o tratamento com aGnRH poderia exercer um potencial efeito protetor sobre o desenvolvimento de SOP em concordância com os dados de Lazar e cols. (49), embora ainda seja um tema controverso (83).

Notavelmente, a paciente com mutação ativadora no *KISS1R* apresentou hiperandrogenemia na última avaliação, embora o significado e o impacto deste dado não sejam totalmente compreendidos.

Em relação à PPC causada pelo HH, o mecanismo ainda não está bem estabelecido, mas algumas hipóteses incluem a presença de neurônios secretores do hormônio liberador de gonadotropina (GnRH) no HH ou a produção intrínseca do fator de crescimento transformador α (TGF- α), agonistas da secreção de GnRH, como demonstrado em estudos imuno-histoquímicos anteriores em modelos animais (26, 85). Além disso, pouco se sabe sobre a etiologia molecular da HH e alguns estudos mostraram expressão gênica diferencial na HH que se apresenta com PPC (IA-1, MEF2A, mGluR1, VILIP-1 e TSG-6), em comparação com aqueles sem PPC (85). A morfologia e, ou posição em relação a outras estruturas hipotalâmicas representam outro elemento envolvido na fisiopatologia da PPC nesses casos (86).

É hipotetizado que pacientes com PPC-HH, principalmente do sexo feminino, possam estar em risco aumentado para distúrbios reprodutivos pós-tratamento devido à maior liberação de gonadotropinas basais e estimuladas por GnRH e à idade mais precoce do início da puberdade (76,

88). Poucos trabalhos acompanharam pacientes com PPC causada por HH após a interrupção do tratamento com aGnRH e demonstraram recuperação normal do eixo gonadotrópico (76, 77). O grupo de meninas com PPC-HH do nosso estudo apresentou média superior de intervalo suspensão do tratamento com aGnRH - menarca ($1,5 \text{ ano} \pm 1 \text{ ano}$) comparada aos outros dois grupos (PPCI e PPC monogênica), semelhante ao descrito por Feuillan e cols. (75) que reportaram intervalo de $1,7 \text{ ano} \pm 1,3 \text{ ano}$ (75). Tal fato pode estar relacionado ao maior tempo de tratamento com aGnRH no grupo PPC-HH. Em um estudo, a comparação dos aspectos reprodutivos entre 18 meninas com PPC causada por HH e 32 meninas com PPCI revelou níveis mais elevados de LH antes e no final do tratamento com aGnRH, maior volume ovariano, maior IMC, maior incidência de oligomenorreia e distúrbios neurológicos no grupo com PPC causada por HH (75). Três pacientes informaram gestação sem intercorrências com nascimento de bebês normais. Os níveis de andrógenos não foram avaliados nesta avaliação. Por outro lado, em nossa coorte, todos os parâmetros reprodutivos avaliados após a interrupção do tratamento com aGnRH foram normais, incluindo ciclos menstruais regulares, morfologia ovariana normal e nenhuma evidência clínica e laboratorial de hiperandrogenismo.

Um estudo que incluiu 11 meninos com PPC-HH após $8,8 \text{ anos} \pm 3,2$ anos de tratamento com a GnRH identificou níveis de testosterona e gonadotrofinas na faixa puberal um ano após a suspensão do tratamento e todos informaram relações sexuais normais (76). Além disso, dois meninos

apresentaram focos ecogênicos pontuais sugestivos de calcificações testiculares. Em nossa coorte, os níveis hormonais após a retirada do aGnRH foram normais em todos e paternidade foi relatada por três pacientes.

O padrão de secreção de GnRH e gonadotrofina em pacientes com PPC-HH na vida adulta tem sido pouco explorado e pouco esclarecido. A ativação precoce do eixo gonadotrópico na infância é aparentemente seguida pelo eixo normal na idade adulta. Especulamos que os esteroides sexuais desempenhem um *feedback* negativo e positivo eficaz, permitindo pulsatilidade normal de GnRH e gonadotrofina em ambos os sexos, durante a vida adulta. Em nosso estudo, o padrão de secreção normal de gonadotrofina cíclica foi detectado em mulheres, como demonstrado por ciclos menstruais regulares e ovulatórios.

Análogos de GnRH de uso mensal e trimestral

Uma das lacunas na literatura é a escassez de dados de seguimento em longo prazo de pacientes tratados com aGnRH de posologia trimestral (33). A comparação dos desfechos entre os grupos de pacientes com PPCI tratados com aGnRH mensal e os tratados com aGnRH trimestral revelou que exceto uma paciente tratada, todas atingiram a altura final normal para o alvo familiar. Em concordância, Bertelloni e cols. (36) compararam 13 pacientes com PPCI tratadas com a formulação trimestral de triptorelina (11,25 mg) vs. 12 pacientes tratadas com a formulação mensal

(3,75 mg) e não encontraram diferenças significativas na AF das pacientes tratadas com ambas as formulações do aGnRH (36).

Na nossa casuística, maior prevalência de sobrepeso e obesidade foi observada em meninas tratadas com aGnRH mensal desde o diagnóstico até a última avaliação. De forma interessante, houve aumento marginalmente significativo do percentual de sobrepeso e obesidade durante o tratamento com aGnRH mensal, seguido por redução significativa do percentual de sobrepeso e obesidade do final do tratamento até a última avaliação. Ao contrário, o grupo tratado com aGnRH trimestral revelou redução não significativa do percentual de sobrepeso e obesidade no final do tratamento e redução significativa deste percentual do diagnóstico comparado à última avaliação. Estes dados devem ser analisados com cautela devido ao número pequeno de pacientes avaliados e aos aspectos multifatoriais envolvidos neste desfecho, porém sugerem efeito deletério do tratamento com aGnRH mensal sobre a evolução do IMC. A avaliação da função reprodutiva na vida adulta foi semelhante em ambos os grupos, sugerindo que a posologia do aGnRH utilizada no tratamento da PPC não tenha interferido no desfecho. Finalmente, ambas as formulações foram seguras e eficazes para o tratamento do PPC em meninas.

5.4 Aspectos psicossociais

Alguns estudos apontaram maior incidência de comportamento de risco em meninas que apresentaram PPC e não foram tratadas e em

mulheres que apresentaram menarca antes dos 11 anos (54, 74). Uma revisão sistemática mostrou que meninas que vivenciam a menarca em idade inferior começam a namorar mais cedo, resultando no início precoce de relações sexuais e comportamentos sexualmente íntimos, além de, aos 18, apresentarem maior incidência de gestação (53). Especula-se que, pela aparência física madura, elas se tornem mais atraentes para homens mais velhos, conseqüentemente, propensas a se envolverem com parceiros mais velhos (53).

Em relação ao uso de substâncias psicoativas lícitas e ilícitas, também há uma relação com a precocidade sexual (53). Entretanto, um dos poucos estudos avaliando este comportamento ao longo do tempo concluiu que os problemas psicossociais na adolescência foram mais significativos nas meninas com menarca precoce e amenizaram-se na idade adulta, na maioria dessas mulheres (73).

Até o momento, pouco se sabe sobre os desfechos psicossociais de pacientes com PPC tratadas com aGnRH (89, 90). Os desfechos psicossociais desfavoráveis podem ser atribuídos, em parte, ao nível elevado de estresse causado pela puberdade precoce. O tratamento com a GnRH reduziu significativamente o escore de estresse em um estudo piloto envolvendo dez meninas com PPC (90). Em nossa casuística, o perfil psicossocial relatado pelos pacientes por meio da aplicação do questionário mostrou que a prevalência de experimento/ uso de álcool (40,1%) e tabaco (3,7%), além das drogas ilícitas (3,7%), foi semelhante ao da população de São Paulo descrita pelo INPAD (Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia

para Políticas Públicas do Álcool e Outras Drogas) em 2012 (www.inpad.org.br).

Em uma pesquisa realizada com estudantes de ensino médio e público do município de São Paulo, no final de 2006, 4.929 alunos responderam a um questionário para traçar um perfil sobre seu comportamento sexual (91). Entre os entrevistados, 55,6% já haviam tido relação sexual, principiando, em média, aos 15 anos, e um pouco mais tarde para meninas (15,4 anos) do que para os meninos (14,6 anos). A idade referida da primeira relação sexual de nossa casuística foi semelhante para o sexo feminino (15,8 anos) e mais alta no sexo masculino (15,5 anos). Na pesquisa com estudantes das escolas do estado de São Paulo, o uso de contraceptivos foi referido por 85,9% dos alunos que já haviam tido relações sexuais e o método mais referido foi o preservativo (95,4%), seguido da pílula anticoncepcional (37,1%) e da contracepção de emergência (9,4%). Em nossa casuística, o uso de algum tipo de contraceptivo foi relatado por 77,8% das mulheres e 33,3% dos homens. O método contraceptivo referido foi preservativo (70%), preservativo com anticoncepcional oral (20%) e contracepção de emergência (10%).

Considerando os estudos com descrição de uma população com mesmo perfil demográfico de nossos pacientes e sem puberdade precoce, os pacientes com PPC tratados com aGnRH de nossa casuística tiveram comportamento psicossocial semelhante e parecido a seus pares sem PPC. Pesquisas com casuística maior e utilizando instrumentos padronizados são necessários para validar estes resultados.

6 CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

- O tratamento da PPC com aGnRH foi efetivo na preservação do potencial genético de altura de pacientes com PPCI e PPC monogênica.
- As prevalências de alterações metabólicas e reprodutivas após o tratamento com aGnRH foram similares nas pacientes com PPCI e PPC causada por mutação no *MKRN3*, sugerindo que este defeito genético não influencia estes desfechos.
- Ao contrário, nas pacientes com PPC causada por mutação no *DLK1*, as prevalências de sobrepeso e obesidade, assim como de alterações metabólicas foram elevadas.
- Todos os pacientes com PPC-HH atingiram altura final normal, demonstrando a eficácia de os aGnRH preservarem o potencial genético de altura.
- Os parâmetros metabólicos (prevalência de sobrepeso, obesidade e alterações metabólicas) foram desfavoráveis nas pacientes com PPC-HH do sexo feminino após o tratamento com aGnRH.

-
- Nenhuma alteração reprodutiva foi identificada em ambos os sexos, indicando que o defeito genético, assim como o hamartoma hipotalâmico *per se* não exerce efeito deletério no eixo gonadotrófico na vida adulta.
 - Os pacientes tratados com aGnRH de uso mensal apresentaram aumento do percentual de sobrepeso e obesidade do diagnóstico até o final do tratamento. Os demais parâmetros em curto e longo prazos avaliados não diferiram entre as posologias de aGnRH mensal e trimestral.
 - Os desfechos psicossociais desta coorte de pacientes com PPC tratados com aGnRH foram similares aos da população geral, sugerindo o potencial efeito benéfico do bloqueio puberal.

7 ANEXOS

7 ANEXOS

ANEXO A – Termos de Consentimento Livre e Esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE
SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO : M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO: Nº: APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD(.....).....

2. RESPONSÁVEL LEGAL
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
DOCUMENTO DE IDENTIDADE: SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO: Nº: APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD(.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **Seguimento em Longo Prazo de Pacientes com Puberdade Precoce Central e Periférica: Aspectos Antropométricos, Metabólicos, Densitométricos, Reprodutivos e Psicossociais**

PESQUISADOR: Dra Carolina de Oliveira Ramos

CARGO/FUNÇÃO: Médica Pesquisadora INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 132857

UNIDADE DO HCFMUSP: Laboratório de Hormônios e Genética Molecular/ Disciplina de Endocrinologia e Metabologia

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO x RISCO MÉDIO ☐

RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 18 meses

Rubrica do participante de pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

Você está sendo convidado a participar deste estudo que tem como objetivo avaliar na vida adulta os pacientes que tiveram puberdade precoce central por diferentes causas (hamartoma hipotalâmico, genética ou de causa não encontrada) ou puberdade precoce periférica por síndrome de McCune Albright, testotoxicose ou devido a mutações no *NROB1*, tratados na infância e/ou adoslencência com análogos de GnRH (posologias mensal e/ou trimestral) ou outras medicações relacionadas ao quadro. Será avaliado na vida adulta o impacto da puberdade precoce e o seu tratamento na estatura adulta, composição corporal, densidade mineral óssea, função reprodutiva e aspectos psicossociais.

Você será acompanhado em consultas, vai realizar os exames de rotina necessários ao seu tratamento e nenhum deles é experimental. Este estudo também implica na coleta adicional de 3 tubos pequenos de sangue ($\pm$ 12 mL) através de uma picada na veia do antebraço ou da mão com agulha estéril e descartável para a obtenção do material genético (DNA) para avaliar se há alguma alteração genética associado ao início precoce da puberdade. Será avaliado também no sangue os hormônios puberais, da função da tireoide, o perfil metabólico dos açúcares e gorduras. Essa coleta será realizada por um profissional treinado e devidamente habilitado para sua realização. Os riscos e desconfortos desses procedimentos serão mínimos. O desconforto da coleta de sangue é a dor da picada e eventualmente o aparecimento de uma pequena equimose (mancha arroxeadada em torno da picada) que desaparecerá em menos de 7 (sete) dias. A ultrassonografia pélvica, a densitometria óssea e bioimpedanciometria serão realizados neste serviço por um profissional especializado nestas áreas sem nenhuma injeção ou uso de medicação durante estes exames. Este estudo também inclui a coleta de informações registradas no seu prontuário médico e responder a um questionário sobre sua qualidade e condições de vida.

Este estudo pode trazer benefícios diretos para você e outros pacientes, pois o seu resultado pode ajudá-los na identificação de problemas de saúde associados a puberdade precoce tratadas e melhorar o seu tratamento e qualidade de vida.

. Rubrica do participante de pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. No entanto, este estudo assegura ao participante da pesquisa e, se necessário, ao seu acompanhante, o ressarcimento de despesas como transporte e alimentação nos dias em que for necessária sua presença para consultas ou exames para fins da pesquisa.

Você tem acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas em qualquer fase do estudo. O principal investigador é o Dr. Vinicius Nahime Brito que pode ser encontrado no endereço Av. Dr. Enéas de Carvalho 255, 2º. Andar, Bloco 6, telefone (11) 2661-7512. Este estudo foi revisado e aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa. Os comitês de Ética são órgãos oficiais e independentes que asseguram que seus direitos sejam respeitados.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225, 5º andar, telefone (11) 2661-6442 (ramais 16, 17, 18 ou 20), FAX: 2661-6442 (ramal 26), email: cappesq@hcnet.usp.br, horário de funcionamento: das 7:00 às 17:00h.

O seu material genético (DNA) poderá ser armazenado para futuras pesquisas, pois com o surgimento de novas tecnologias poderemos continuar estudando o seu caso e descobrir a causa genética da sua doença. No entanto, para realização de uma nova pesquisa com o seu material genético, você será obrigatoriamente contactado e, se você desejar participar, um novo termo de consentimento livre e esclarecido será necessário, bem como será realizada uma nova análise por meio do sistema de Comissão de Ética em Pesquisa (CEP). O tempo de armazenamento do material será de acordo com o cronograma da pesquisa, sendo que o prazo máximo é de 10 anos. Você ou seu representante legal podem retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico armazenado pelo pesquisador a qualquer tempo e sem quaisquer ônus ou prejuízos, valendo a desistência a partir da data de formalização desta. A retirada do consentimento será formalizada por manifestação, por escrito e assinada, pelo participante da pesquisa ou seu representante legal, cabendo-lhe a devolução das amostras existentes.

Informamos também que este termo de consentimento será elaborado em duas vias igualmente válidas, assinadas e rubricadas em todas as suas páginas, sendo uma retida com o pesquisador responsável e outra com o participante da pesquisa.

Rubrica do participante de pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim descrevendo o estudo **"Seguimento em Longo Prazo de Pacientes com Puberdade Precoce Central e Periférica: Aspectos Antropométricos, Metabólicos, Densitométricos, Reprodutivos e Psicossociais"**.

Fui bem orientado (a) pelo Dr. Vinicius Nahime Brito e pela Dra. Carolina de Oliveira Ramos e declaro a minha decisão em participar neste estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

1)

Assinatura do participante/ representante legal

Data / /

2)

3)

Assinatura da testemunha

Data / /

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Pesquisador responsável

Data / /

Anexo B: Questionário de seguimento para pacientes com PPC tratados com aGnRH**Data:****Nome:****RG –HC:****Data de nascimento:****Idade atual :****Data de suspensão do tratamento:****Tempo de suspensão do tratamento:**

1) Faz uso de contraceptivos orais?(SIM)(NÃO)

Qual? _____

2) –Tem acne? (SIM)(NÃO)

3) Como classifica a distribuição de pêlos no seu corpo? FOTO

FIGURA1: Escala Ferriman-Gallwey ⁶

4) Tem ciclos menstrual todo mês?

5) Qual o interval aproximado? (<26 dias) (26 a 35 dias) (> 35 dias)

6) Já ficou alguma vez por mais de 35 diassem menstruar por pelo menos 3 meses consecutivos?

7) Já engravidou alguma vez? (SIM) (quantas: -----) (NÃO) Aborto:

8) Houve fertilização espontânea ou assistida?

Anexo C: Questionário para avaliação dos aspectos sociais, sexuais e profissionais

Nome do paciente:

RGHC:

Cidade:

Estado:

1. **Etinia:** Branco (1) Pardo (2) Negro (3)
2. **Você tem religião?** Sim (1) Não (2)
3. **Se sim, qual?** Católica (1) Evangélica (2) Budista (3) Muçulmana (4)
Kardecista (5) Religiões afro-brasileiras (6) Ateísmo (7)
4. **Escolaridade:** analfabeto (0) fundamental incompleto (1) fundamental completo (2) ensino médio incompleto (3) ensino médio completo (4) superior incompleto (5) superior completo (6)
5. **Atualmente você:** Estuda (1) Trabalha (2) Trabalha e estuda (3) Está sem atividades no momento (4)
6. **Seus amigos são na maioria:** mais novos que você (1) Mesma idade (2) Mais velhos que você (mais de 2 anos de diferença) (3)
7. **Você tem dificuldade em fazer novos amigos ou manter suas amizades?**
Sim (1) Não (2)
8. **Por quê?**

9. **Com qual idade você teve seu primeiro beijo?** _____ **Namorado?** _____
10. **Você já teve alguma relação sexual?** Sim (1) Não (2)
11. **Qual sua idade quando teve sua primeira relação sexual?** _____

12. Qual a idade do seu parceiro quando você teve sua primeira relação sexual?

13. Qual tipo de relacionamento com o primeiro parceiro sexual? Namorado/a (1)
Noivo/a (2) Outros tipos de relacionamento (3)

14. Qual o local da ocorrência da primeira relação sexual? Em casa (1) Fora de casa (2)

15. Teve algum planejamento prévio da primeira relação sexual? Sim (1) Não (2)

16. Fez uso de algum tipo de método contraceptivo na primeira e na última relação sexual? Sim (1) Não (2)

17. Qual foi o tipo de método contraceptivo utilizado na primeira e na última relação sexual? _____

18. Qual o número médio de parceiros sexuais nos últimos anos? _____

19. Seus parceiros/ namorados costumam ser: mais novos que você (1) mesma idade que você (2) mais de 3 anos mais velhos (3)

20. Você já teve alguma doença sexualmente transmissível? Sim (1) Não (2)

21. Se sim, qual? _____

22. Responda a tabela abaixo:

Substância Psicoativa	Uso na vida Sim (1) Não (2)	Uso atual- último mês Sim (1) Não (2)	Padrão de uso: (1) Diário (2) 3-5x/sem (3) 1-2x/sem (4) 1-3x/mês	Idade de início do consumo
Álcool				
Tabaco (cigarro)				
Tranquilizantes				
Maconha				
Cocaína				
Crack				
Outras: _____				

Tabela 1 - Dados clínicos e laboratoriais das pacientes com puberdade precoce central idiopática ao diagnóstico

Pacientes	IC(a)	IO inicial (a)	Altura (cm)	Altura DP	Peso (kg)	Classificação do IMC	Estadio puberal	LH (U/L)		FSH (U/L)	E2 (pg/mL)	IC no início do tratamento (a)
								Basal	Pico			
1	7,5	11	131,7	-0,74	37	O	ND	5,4	39,5	1	10	11
2	6	12	128,6	0,14	30,7	S	M3P2	0,6	5,3	2,7	8,3	12
3	7,3	11	142	3,14	40,7	O	M3P3	0,8	NA	1,4	8	11
4	3	8,8	136	3,96	30,4	N	M4P3	0,6	9,8	3,7	6,5	8,8
5	4	12	151	3,9	49,5	O	M5P4	3,5	7,9	7,1	8,9	12
6	6	11	141,5	2,33	35,2	N	M4P4	2,3	15	5,9	8,6	11
7	6	8,9	123,1	0,73	26,6	S	M2P3	0,6	9,5	5,5	7,5	8,9
8	6,8	9,5	133,2	2,18	33,8	S	M4P2	0,3	16,9	3,7	7,3	9,5
9	6,9	7,9	125,5	0,35	35,4	O	M3P2	2	20	2	7,5	7,9
10	6,9	11,5	141,1	0,7	34,8	N	M3P3	2,2	NA	4,6	10,1	11,5
11	6	8,9	129,5	1,3	30,8	S	M3P1	0,6	NA	2,1	8,5	8,9
12	6	11	142,5	1,8	43,3	S	M4P2	0,6	5,1	3,4	9	11
13	7	11,5	135	0,08	28,9	N	M4P3	3,7	NA	3,6	9,9	11,5
14	7	11	135,4	0,95	32,6	N	M3P3	1,2	19	1,8	8,9	11
15	7,5	12	141,8	2,38	42	O	M3P3	1,1	NA	5,6	8,5	12
16	7,9	11	152	3,37	47	S	M4P4	2,9	NA	6,2	9,3	11
17	6	11,5	139	2,2	38,3	O	M4P3	1,5	NA	5,6	8,3	11,5
18	2	8,8	118,8	3,3	24,7	S	M4P1	0,7	18,8	1,5	4,9	8,8
19	7	11,5	136	2	35	N	M4P3	2,3	NA	4,4	8	11,5
20	6	10	141	2,2	30	N	M3P3	ND	ND	ND	8,5	10
21	6	11	146	2,56	38	N	M3P3	5,1	33,7	5,9	9,08	11

continua

Tabela 1 - Dados clínicos e laboratoriais das pacientes com puberdade precoce central idiopática ao diagnóstico (conclusão)

Pacientes	IC(a)	IO inicial (a)	Altura (cm)	Altura DP	Peso (kg)	Classificação do IMC	Estadio puberal	LH (U/L)		FSH (U/L)	E2 (pg/mL)	IC no início do tratamento (a)
								Basal	Pico			
22	6,5	11	146	2,93	36,4	N	M4P4	2,9	41,9	5,1	8,75	11
23	7	11	134,4	1	36,7	O	M4P4	0,5	12,7	2,4	8,5	11
24	6	10	144	3,7	32	N	M4P4	2,07	36,2	4,5	7,5	10
25	7	12	133,6	0,82	21,7	N	M4P1	NA	18,6	ND	8,5	12
26	5	11	135,5	2,19	33	S	M3P3	0,1	9,4	1	7,6	11
27	5	8,9	128,1	1,99	29,5	S	M1P2	0,1	21,1	1,6	7,5	8,9
28	6,8	8,8	130,8	1,91	33,8	O	M2P2	0,9	NA	3	8,5	8,8
29	7,3	11,5	134	1,56	31	N	M3P3	0,24	18,6	3,2	8	11,5
30	7,5	10	135	1,22	27,8	N	M4P1	0,3	NA	4,8	8,5	10
31	7,5	11	147	1,85	40,7	N	M3P3	1,8	13,7	6,4	9,83	11
32	6	11	136,4	0,79	28,5	N	M4P3	0,1	22,9	1,3	9,5	11
33	6	11	133	0,4	35,5	S	M4P4	6,88	30,1	9,2	9	11
34	7,6	10	138	1,73	31,3	N	M3P3	1,1	9,9	5,2	8,4	10
35	6,7	8,8	127	0,72	35,4	O	M3P3	1	18,4	5,8	7,8	8,8
36	7,9	10	135,2	1,9	28,6	N	M4P1	4,6	NA	13,2	8	10
37	7	11,5	142	2,25	33	N	M3P3	1,8	6,5	6,1	8,3	11,5
38	8	10,5	137,8	1,36	33	N	M3P3	1,5	45,3	5,5	9,1	10,5
39	7	11	ND	ND	ND	ND	M3-4P3	0,9	20,9	ND	8,9	11
40	4	6,9	116,5	1,25	19,6	N	M3P1	0,6	16,9	2	5,2	6,9
41	4	11,5	116,6	1,06	18,9	N	M3P1	0,54	11,37	ND	5,1	11,5
42	7,6	11	140	1,56	41,9	O	M4P4	0,2	5,2	2,8	9,1	11
43	7,9	13	134,3	0,61	32,3	N	M4P3	4,9	ND	12,9	9	13

IC: Idade cronológica; IO: idade óssea; DP: desvio padrão; N: normal; S: sobrepeso; O: obesidade; M: mama; P: pêlos pubianos; E₂: estradiol; # LH 2h após acetato de leuprorrelina *depot* 3,75 mg; NA: não avaliado; ND: não disponível

Tabela 2 - Dados clínicos e antropométricos dos pacientes com puberdade precoce central idiopática ao final do tratamento com aGnRH e na vida adulta

Pacientes	Duração do tratamento (a)	Ao final do tratamento com aGnRH						Na vida adulta							
		IC (a)	IO (a)	Altura (cm)	Altura DP	Peso (kg)	Classificação do IMC	IC (a)	Crescimento pós tratamento (cm)	AF (cm)	AF DP	AA (cm)	AA DP	IMC	% massa gorda
1	1,5	11,5	11,5	137,5	-1,55	45,6	O	27,1	4,3	141,8	-3,4	153	-1,5	28,4	45,9
2	3	11,33	13,5	144,5	-0,9	36,2	N	25	10,5	155	-1,2	152,2	-1,66	19,5	NA
3	2	10	12,5	156,1	2,9	56,3	O	16,8	3,4	162,5	0	167,5	0,83	25,1	40,3
4	3,3	9,9	13	154,2	3	38,1	N	20,5	16,4	170,6	1,4	169,5	1,16	21,2	30,1
5	1,9	10,8	14	158,3	2,6	75,4	O	14,5	4,7	163	0	167,2	0,83	31	NA
6	2	10,6	12	150,1	1,67	53,1	O	22,1	4,9	155	-1,2	#	#	28	NA
7	3	10,5	11	143,2	2,08	35,5	N	14	14,8	158	-0,7	#	#	22,4	NA
8	3,9	11,1	12	153	1,29	46,3	N	15	10	163	0,1	155,6	-1,1	19,9	25,7
9	3,7	11,2	12,5	143,5	0	52,4	O	14,6	9,8	153,3	-1,4	156,5	-0,9	23,7	NA
10	1	11,1	13	145,2	0,19	43,8	S	25,3	6,6	151,8	-1,7	153	-1,5	23,7	36,1
11	1,6	10,1	12	149,8	1	47,1	S	20,1	13,2	163	0,1	157,3	-0,6	27	39,3
12	1,9	10,9	12	154,5	1,56	61,2	O	15,2	10,5	165	0,5	163,2	0,16	28,2	NA
13	1,9	11,8	12,5	147,3	0	42	N	20,7	9,4	156,7	-0,9	160	-0,36	19,1	27,5
14	2,05	10,95	13	147	0,7	45	S	14	8,3	155,3	-1,1	154,5	-1,2	26,3	NA
15	1,5	10	13	151	2,3	50	O	13,5	12	163	0,1	#	#	24,7	NA
16	1,7	11	12	162	3,18	60	O	13,5	6,6	168,6	1	166	0,7	27,7	45,9
17	2,1	10,4	13	150	1,77	46,6	S	20	15	165	0,45	158,5	-0,7	27,1	NA
18	5,9	10,8	12,6	148	0,99	39	N	13	12,6	160,6	-0,2	160	-0,3	18,2	NA
19	2,5	10,5	12,5	152,5	1,98	49,3	S	14	6,5	159	-0,5	157,5	-0,8	21,1	NA
20	2,1	10,6	12,5	152,4	1,9	39,1	N	16,8	12,6	165	0,13	157,5	-0,78	19,7	27,8
21	1,57	10,66	12	157	2,6	46	N	16	14	171	1,46	153	-1,5	21,2	32,5

continua

Tabela 2 - Dados clínicos e antropométricos dos pacientes com puberdade precoce central idiopática ao final do tratamento com aGnRH e na vida adulta (conclusão)

Pacientes	Ao final do tratamento com aGnRH							Na vida adulta							
	Duração do tratamento (a)	IC (a)	IO (a)	Altura (cm)	Altura DP	Peso (kg)	Classificação do IMC	IC (a)	Crescimento pós tratamento (cm)	AF (cm)	AF DP	AA (cm)	AA DP	IMC	% massa gorda
22	2,25	11	12	158,5	2,27	52	N	18	12,1	170,6	1,4	165,5	0,55	26,7	32,7
23	2,4	10,9	12	143,5	0,33	51,2	O	16,6	8,6	152,1	-1,66	152,5	-1,6	26,9	39,5
24	2,5	10	12	158,5	3,5	42,8	N	15,7	13,7	172,2	1,66	157,5	-0,78	20,2	29,7
25	3	11,5	13	151	0,6	49,1	N	17	10	161	-0,2	#	#	23,07	30,9
26	3,7	11,3	12	158,2	2	46,2	N	16,4	8,3	166,5	0,7	148,5	-2,2	22,3	25,6
27	3,2	10,8	11	149,5	1,42	44,7	N	14,5	14,7	164,2	0,33	153	-1,5	20,2	27,9
28	2,5	11	12	154	1,62	56,5	O	18	11	165	0,5	167	0,8	23,6	33,6
29	2,9	11	13	148	0,76	39,8	N	15	9	157	-0,87	157,5	-0,78	18,3	16,6
30	2,8	11,3	12	148,1	0,42	36	N	15,2	16,4	166,9	0,8	164,5	0,36	17,4	24,3
31	2,66	11,5	11,5	158,8	1,7	58,3	O	16,5	12,8	171,6	1,4	168,5	1	23,8	34,4
32	2,4	11,9	13	149	-0,03	34,4	N	14,8	9,2	158,2	-0,66	164,5	0,36	20,9	NA
33	2,3	11,3	ND	143	-0,27	50	O	14,5	7,2	150,2	-2	158	-0,7	25,5	30,5
34	2,8	11,2	12	155	1,57	50,3	S	14	6,9	161,9	-0,05	170	1,3	ND	NA
35	3,2	11	12	152	1,5	55,7	O	14,9	10,2	162,2	0	157,5	-0,78	27,3	36,1
36	3,1	11,1	12	156	1,5	42,2	N	13,5	11,5	167,5	0,88	165	0,5	21,9	31,5
37	2,8	11,3	11	161,5	2,26	51,8	N	13,5	10,5	172	1,63	165	0,5	21,7	29
38	2,1	11,2	12	149,5	0,79	40,9	N	16,3	9,6	159,1	-0,5	152,2	-1,66	23,3	26,1
39	2,2	11,1	13	157	1,85	53	N	13,7	3,7	160,7	-0,25	158,5	-0,7	19,2	27,1
40	5,8	11	ND	NA	NA	NA	NA	16,4	NA	156	-1	158,5	-0,7	18,3	NA
41	5,8	10,9	12	145	0,55	34,2	N	15,1	18	163	0,1	149	-2,2	19,5	22,7
42	2	11,1	13	152	1,33	52,5	S	14,7	8,5	160,5	-0,28	152,5	-1,61	26,6	35,9
43	2	11	13,5	145	0,32	40	N	13,7	10	155	-1,2	155	-1,2	18,9	NA

IC: Idade cronológica; IO: idade óssea; DP: desvio padrão; IMC: índice de massa corporea; N: normal; S: sobrepeso; O: obeso; AF: altura final; AA: altura alvo; MG: massa gorda; ND: não disponível; NA: não avaliado; # paciente adotada

Tabela 3 - Dados hormonais e metabólicos das pacientes com puberdade precoce central idiopática tratadas com aGnRH na vida adulta

Pacientes	LH (IU/L)	FSH (IU/L)	TT (ng/dL)	E ₂ (pg/mL)	DHEA-S (ng/mL)	Δ4 (ng/mL)	P (ng/mL)	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerídes (mg/dL)	HOMA-IR
1	11,9	4,1	43	158,3	3250	1,95	5,7	106	51	31	122	1,8
2	7	3,7	30,9	14,6	1118	0,9	0,2	189	90	87	60	1,3
3	10,1	3,5	12	143,8	1250	0,8	15,1	157	54	84	94	3,6
4	14,4	7,2	58	46,2	2120	2,12	0,9	147	52	79	79	1,6
5	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
6	3,6	5,2	NA	36	NA	NA	NA	149	47	89	64	NA
7	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
8	1,3	2,7	24	126,7	NA	0,85	1,3	140	54	79	37	2,1
9	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
10	7,3	3,6	37	138,2	2230	1,82	6,7	144	54	73	83	2,9
11	35,5	4,9	37	391,3	2280	1,43	10,9	182	68	100	71	1,4
12	5,9	4,8	42	166	245	2,31	0,3	152	46	87	96	2,3
13	4	5,9	NA	54	NA	NA	NA	152	52	90	48	NA
14	4,4	3	49	61	2370	3	0,3	NA	NA	NA	NA	NA
15	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	186	47	129	48	4,3
16	4,7	5,5	1,28	58	261	1,3	0,7	153,3	51,2	69,9	161	4,09
17	3,9	4,5	NA	113	NA	NA	NA	187	67	105	71	NA
18	6,4	5	59	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
19	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
20	3,5	4,5	NA	52	NA	NA	NA	142	41	91	48	NA
21	3,1	8,6	17	42,2	2130	0,66	0,4	172	40	114	91	3,6
22	14,1	5,6	79	54,5	2770	3,04	NA	110	38	54	91	4,6

continua

Tabela 3 - Dados hormonais e metabólicos das pacientes com puberdade precoce central idiopática tratadas com aGnRH na vida adulta (conclusão)

Pacientes	LH (IU/L)	FSH (IU/L)	TT (ng/dL)	E ₂ (pg/mL)	DHEA-S (ng/mL)	Δ4 (ng/mL)	P (ng/mL)	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerides (mg/dL)	HOMA-IR
23	10,4	5,3	34	44,5	2706	1,46	1,4	144	61	69	71	1,6
24	9,9	7,8	51	172,7	3667	1,12	0,8	158	63	77	89	2,6
25	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	104	71	38	44	NA
26	2,5	4,2	33	39,8	2532	1,5	0,9	131	42	73	81	1,8
27	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
28	2,6	5,3	17	49	2065	< 0,5	NA	132	48	75	45	1,4
29	3,2	3,4	28	146,8	3160	0,79	NA	152	62	78	60	1,3
30	18	5,6	20	98,6	1530	1,17	0,9	132	40	74	99	4,9
31	4,5	5	19	20	2131	0,8	0,6	140	50	76	70	2,5
32	3,3	3,3	40	98,8	1497	2,24	0,8	238	83	135	92	NA
33	7,5	6,4	37	62,6	2751	NA	NA	129	56	60	57	2,8
34	2,2	5	NA	23,9	NA	NA	NA	130	42	70	92	NA
35	1,9	1,8	30	115,3	2528	1,05	9,9	157	42	99	70	2,5
36	2,7	6	12	21,8	693	NA	NA	145	56	72	86	3,0
37	1,3	3,5	20	62,2	1247	NA	2,8	106	40	54	61	2,9
38	6,1	5,9	31	53,6	2195	0,81	3,4	108	57	39	41	3,4
39	7,6	5,1	38	67,3	3043	0,9	0,8	107	54	42	37	NA
40	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
41	2,7	2,6	31	131,7	1488	1,08	NA	135	51	70	63	2,2
42	7,1	6,6	25	44,3	3212	1,21	0,5	107	54	42	37	NA
43	1,3	8,2	19	27,6	2329	0,58	0,8	147	52	80	69	2,1
VR	M: 1.7-8.6 F: 2.4-12.8	1.5-12.4	M: 249-836 F: < 48	< 10 - 122	1480 - 4070	0.25 - 2.2	1.7 - 27	< 200	>45	< 100	< 150	< 3.8

VR: valor de referência

Tabela 4 - Dados clínicos e laboratoriais das pacientes com puberdade precoce central por mutação no *KISS1R* e *KISS1* ao diagnóstico

Pacientes	Defeito genético	IC (a)	IO (a)	Altura (cm)	Altura DP	Peso (kg)	Classificação do IMC	Estadio puberal	LH (U/L)		FSH (U/L)	E2/TT (pg/mL)	IC do início do tratamento (a)
									Basal	Pico#			
1	KISS1R	7	11	131,5	0,63	26,7	N	M4P2	0,6	8,5	2,6	22	8,5
2	KISS1	1	2,7	85	0,5	14	O	G2P2	11,5	47,5	2,6	600	1,5

IC: Idade cronológica; IO: idade óssea; DP: desvio padrão; N: normal; S: sobrepeso; O: obesidade; G: gônada; M: mama; P: pêlos pubianos; E2: estradiol; TT: testosterona total; # LH 2h após acetato de leuprorrelina *depot* 3,75 mg

Tabela 5 - Dados clínicos e laboratoriais dos pacientes com puberdade precoce central causada por mutação no *KISS1R* e *KISS1* ao final do tratamento com aGnRH e na vida adulta

Pacientes	Duração do tratamento (a)	Ao final do tratamento com aGnRH						Na vida adulta							
		IC (a)	IO (a)	Altura (cm)	Altura DP	Peso (kg)	Classificação do IMC	IC (a)	Crescimento pós tratamento (cm)	AF (cm)	AF DP	AA (cm)	AA DP	IMC	% massa gorda
1	3	11,6	12	145	-0,14	39,5	N	22,9	7,5	152,5	-1,6	#	#	37,9	NA
2	10	11,5	11	145	0,46	54,4	O	17	21,5	166,5	- 1,2	ND	ND	32,8	45,9

IC: Idade cronológica; IO: idade óssea; DP: desvio padrão; IMC: índice de massa corporea; O: obeso; N: normal; AF: altura final; AA: altura alvo; ND: não disponível; # paciente adotada

Tabela 6 - Dados hormonais e metabólicos dos pacientes com puberdade precoce central causada por mutação no *KISS1R* e *KISS1* na vida adulta

Pacientes	LH (U/L)	FSH (U/L)	TT (ng/dL)	E ₂ (pg/mL)	DHEA-S (ng/mL)	Δ4 (ng/mL)	P (ng/mL)	colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerides (mg/dL)	HOMA-IR
1	6,2	3,4	82	47	6340	0,9	0,3	150	69	76	67	3,6
2	3,4	1,4	535	NA	NA	1,95	NA	167	42	106	93	NA
VR	M: 1.7-8.6 F: 2.4-12.8	1.5-12.4	M: 249-836 F: < 48	< 10 - 122	1480 - 4070	0.25 - 2.2	1.7 - 27	< 200	>45	< 100	< 150	< 3.8

TT: testosterona; Δ4: androstenediona; P: progesterona no 21º dia do ciclo menstrual, NA: não avaliado; RV: valor de referência

Tabela 7 - Dados clínicos e laboratoriais das pacientes com puberdade precoce central por mutação no *MKRN3* ao diagnóstico

Pacientes	Mutação	IC(a)	IO inicial (a)	Altura (cm)	Altura DP	Peso (kg)	Classificação do IMC	Estadio puberal	LH (U/L)		FSH (U/L)	E2 (pg/mL)	IC no início do tratamento (a)
									Basal	Pico#			
1	p.Pro161Argfs*10	2	12	133,5	3,22	31,3	S	M4P3	1,63	NA	2,6	62	6,9
2	p.Gln226Thrfs*6	6,4	11	141,5	3,05	32,8	N	M3P4	1	13	5,9	15	8,9
3	p.Glu256Glyfs*36	6	8,9	120,1	0,5	27	O	M3P2	1,6	NA	4,6	20	6,6
4	c.-150_-147delTCAG	7,6	8,9	132,2	1,42	33,6	O	M3P3	1	8,9	5,3	69,6	7,75
5	c.482_483 insC, p.Pro161Argfs*16	5,4	8,8	124	1,6	24	N	M3	1,3 *	NA	5 *	36	6,2
6	c.482delC, p.Pro161Arg fs*10	3	8,8	130	2,1	30	S	M3	1,8 *	62,5 *	4,9 *	60 (FIA)	6,7
7	c.1249T>A, p.Phe417Ile	6	8,8	127,5	0,9	25,7	N	M3	0,3 *	7,5 *	4,4 *	44	7,1
8	c.482_483insC, p.Pro161Profs*16 (p.Leu507Val (rs116680462) (15:23567301))	7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	8
9	c.482_483insC, p.Ala162Glyfs*15	7	11	138	1,73	33,1	N	M4P2	0,8		3,6	10	8,7
10	c.1171_1172insA, p.Tyr391* (rs879255239)	6,2	7	110,5	-1,6	19	N	M3P1	0,6	36	1,13	13,2	7,4
11	c.1171_1172insA, p.Tyr391* (rs879255239)	5,7	6	116	0,5	22	N	M3P1	0,6	37,6	1,13	11	6,3
12	c.637delC, p.Arg213Glyfs*73 (rs87925523)	5,7	7,7	ND	ND	ND	ND	ND	0,8	13,6	3,8	25	ND
13	c.637delC, p.Arg213Glyfs*73 (rs87925523)	6,5	7,8	ND	ND	ND	ND	M2	1,1	16,7	4,5	15	ND
14	c.1095G>T, p.Arg365Ser (rs879255240) (1	6,2	9,4	ND	ND	ND	ND	M2	0,1	7,3	7	49	ND

continua

Tabela 7 - Dados clínicos e laboratoriais das pacientes com puberdade precoce central por mutação no *MKRN3* ao diagnóstico (conclusão)

Pacientes	Mutação	IC(a)	IO inicial (a)	Altura (cm)	Altura DP	Peso (kg)	Classificação do IMC	Estadio puberal	LH (U/L)		FSH (U/L)	E2 (pg/mL)	IC no início do tratamento (a)
									Basal	Pico#			
15	c.1095G>T, p.Arg365Ser (rs879255240) (1)	5,4	8,5	ND	ND	ND	ND	M2	0,5	12,3	3,6	15	ND
16	c.482_483 insC, p.Pro161Argfs*16	6,3		124	0,8		ND	M3	0,9	NA	3,3	54,1	ND
17	c.482_483insC, p.Pro161Argfs*16	6	11	141	2,3	49,5	O	M4	3,4 *	NA	10 *	80 (FIA)	ND
18	c.482_483insC, p.Pro161Argfs*16	6	9,3	127,1	1,6	32,2	O	M3	2,7 *	16,6	6,5 *	47	ND
19	p.Arg328His (15:23811912 G/A)	6,9	7,8	125,2	1,45	26,8	N	M3	3,5	35	5,2	10	ND
20	p.Arg328His (15:23811912 G/A)	5,2	6	113,7	1,14	19,5	N	M3	0,5	8,5	4,1	21	ND
21	c.1172_1173insA, p.Tyr391Terfs (rs879255239) (15:23566954)	6	11	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
22	c.1172_1173insA, p.Tyr391Terfs (rs879255239) (15:23566954)	5	7,8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
23	c.1172_1173insA, p.Y391* (rs879255239)	4,9	11	131,5	2,94	31,5	S	M3	2,9	ND	6,5	34,6	ND
24	c.482_483insC, p.Ala162Glyfs*15	6	10	125	1,04	28	S	ND	1,85	ND	ND	65	ND
25	c.482_483insC, p.Ala162Glyfs*15 (C11362)	6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	53,3
26	p.364 Cys>Phe	5,6	7,8	115,5	1	25	S	ND	2,55	ND	3,75	ND	ND
27	ND	7,4	7,9	117,6	-0,97	22,9	N	M3	1,2	29,4	4,8	43,2	ND
28	p.R189Lfs*17	5,6	11	128,8	1,17	25,7	N	M5	0,9	69	2,8	15	ND
29	c.482_483insC, p.Ala162Glyfs*15	7,9	8,8	130,5	0,8	29,4	ND	M3	1,1	ND	6,6	ND	ND

IC: Idade cronológica; IO: idade óssea; DP: desvio padrão; N: normal; S: sobrepeso; O: obesidade; M: mama; P: pêlos pubianos; E2: estradiol; # LH 2h após acetato de leuprorrelina *depot* 3,75 mg; * IFMA; NA: não avaliado; ND: não disponível

Tabela 8 - Dados clínicos e laboratoriais dos pacientes com puberdade precoce central causada por mutação no *MKRN3* ao final do tratamento com aGnRH e na vida adulta

Pacientes	Ao final do tratamento com aGnRH							Na vida adulta							
	Duração do tratamento (a)	IC (a)	IO (a)	Altura (cm)	Altura DP	Peso (kg)	Classificação do IMC	IC (a)	Crescimento pós tratamento (cm)	AF (cm)	AF DP	AA (cm)	AA DP	IMC	% massa gorda
1	2,4	9,3	13,5	149	2,9	48,4	21,7	20,6	9,5	158,5	-0,6	153	-1,5	36,8	50,7
2	1,1	10,7	13	157	2,05	49,2	19,9	29,9	8	165	0,4	161,5	-0,1	28,4	37,9
3	4	10,6	12	144	0,7	47,3	22,8	16,5	9	153	-1,5	156,5	-0,9	23,4	ND
4	3,2	11	12	152,1	1,3	50,8	21,9	16,3	9,9	162	0	163,5	0,2	21,4	ND
5	4,4	10,6	13	152	1,9	36,8	15,9	18,9	8,5	160,5	-0,28	160,5	-0,3	19,4	ND
6	3,3	10	13	153	2,6	46,5	19,8	13	7,5	160,5	-0,28	159,5	-0,45	23,2	ND
7	3,3	11,1	11	148,5	0,65	38,5	17,5	14,6	13,5	162	0	156,2	-1	17,9	ND
8	2,2	13	14	147,5	-1,1	63,5	29,3	15,7	1,5	149	-2,2	152	-1,7	31,3	ND
9	1,8	10,5	12	147,5	1,2	41,2	19	18	11,5	159	-0,53	170	1,3	18,1	ND
10	3,3	10,7	ND	138,5	-1	31,1	16,2	20	10	148,5	-2,2	ND	ND	20,1	17,6
11	2,7	9	12	139,5	1,5	32,4	16,5	18	16,5	156	-1	ND	ND	ND	ND

IC: Idade cronológica; IO: idade óssea; DP: desvio padrão; IMC: índice de massa corporea; AF: altura final; AA: altura alvo

Tabela 9 - Dados hormonais e metabólicos dos pacientes com puberdade precoce central causada por mutação no *MKRN3* na vida adulta

Pacientes	LH (U/L)	FSH (U/L)	TT (ng/dL)	E ₂ (pg/mL)	DHEA-S (ng/mL)	Δ4 (ng/mL)	P (ng/mL)	colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerides (mg/dL)	HOMA-IR
1	3,1	1,5	93	247,2	4700	0,91	6,2	150	70	70	50	2,5
2	0,8	4	12	17	335	0,5	NA	235	98	117	98	NA
3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
4*	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
5	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
7	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
8	NA	4,9	61	NA	130	NA	NA	187	56	113	89	3,1
9	19	6,5	NA	37,7	NA	NA	NA	149	50	83	82	1,88
10	6,47	2,6	18	100	233	1,6	9,56	129	61	56	42	2,43
11	2,3	5,5	31	NA	NA	NA	NA	139	NA	NA	104	NA
VR	M: 1.7-8.6 F: 2.4-12.8	1.5-12.4	M: 249-836 F: < 48	< 10 - 122	1480 - 4070	0.25 - 2.2	1.7 - 27	< 200	>45	< 100	< 150	< 3.8

*Uso de anti-contraceptivo oral; TT: testosterona total; Δ4: androstenediona; P: progesterona no 21º dia do ciclo menstrual, NA: não avaliado; RV: valor de referência

Tabela 10 - Dados clínicos e laboratoriais das pacientes com puberdade precoce central por mutação no *DLK1* ao diagnóstico

Pacientes	IC(a)	IO inicial (a)	Altura (cm)	Altura DP	Peso (kg)	Classificação do IMC	Estadio puberal	LH (U/L)		FSH (U/L)	E2 (pg/mL)	IC no início do tratamento (a)
								Basal	Pico#			
1	5,9	10,6	127,2	1,6	28	N	M4P3	1,6	23,5	4,7	6,9	29
2	4	7	125,5	1,7	26,5	N	M3P1	0,6	11,4	1,6	6,9	13
3	6	11	140	1,9	39,2	O	M4P1	0,5	26,5	4,8	8,2	8,6
4	5,7	11	129,5	2,46	30	S	M4P2	0,7	31,5	2,9	6,7	53,3

IC: Idade cronológica; IO: idade óssea; DP: desvio padrão; N: normal; S: sobrepeso; O: obeso; M: mama; P: estadio dos pêlos pubianos; E2: estradiol; # LH 2h após acetato de leuprorrelina *depot*

Tabela 11 - Dados clínicos e laboratoriais ao final do tratamento com aGnRH dos pacientes com puberdade precoce central causada por mutação no gene *DLK1*

Pacientes	Duração do tratamento (a)	Ao final do tratamento com aGnRH						Na vida adulta							
		IC (a)	IO (a)	Altura (cm)	Altura DP	Peso (kg)	Classificação IMC	IC (a)	Crescimento pós tratamento	AF (cm)	AF DP	AA (cm)	AA DP	IMC	% massa gorda
1	3,6	10,5	12	146,8	1,16	41,5	N	16,7	13,5	160,3	-0,3	166,5	0,7	21,8	34,2
2	4,3	11,2	12	150,5	0,92	48,7	S	22,3	9	159,5	-0,4	158,5	-0,7	33,1	50,4
3	3,1	11,3	12	151,7	0,92	45,5	N	21,4	5,8	157,5	-0,78	158,5	-0,7	21,5	35,4
4	4,2	10,9	13	149,7	1	40,6	N	23,2	6,3	156	-1	166,5	0,7	29,2	43,6

IC: Idade cronológica; IO: idade óssea; DP: desvio padrão; IMC: índice de massa corporea; AF: altura final; AA: altura alvo

Tabela 12 - Dados hormonais e metabólicos dos pacientes com PPC causada pela mutação no *DLK1* na vida adulta

Pacientes	LH (U/L)	FSH (U/L)	TT (ng/dL)	E ₂ (pg/mL)	DHEA-S (ng/mL)	Δ4 (ng/mL)	P (ng/mL)	Colesterol total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerídes (mg/dL)	HOMA-IR
1	3,3	5,1	NA	26,5	NA	NA	NA	171	44	114	66	11
2*	5,5	7	NA	15	NA	NA	NA	196	41	135	100	5
3	11,7	2,4	32	87,9	1632	2,67	7,5	145	72	60	44	1,3
4	2,4	5,4	18	27,3	1499	0,74	0,5	196	36	142	78	4,1
VR	M: 1.7-8.6 F: 2.4-12.8	1.5-12.4	M: 249-836 F: < 48	< 10 - 122	1480 - 4070	0.25 - 2.2	1.7 - 27	< 200	>45	< 100	< 150	< 3.8

*Uso de anti-contraceptivo oral; TT: testosterona total; Δ4: androstenediona; P: progesterona no 21º dia do ciclo menstrual, NA: não avaliado; RV: valor de referência

Tabela 13 - Dados clínicos e hormonais dos pacientes com puberdade precoce central por hamartoma hipotalâmico antes do início do tratamento com GnRHa

Pacientes	Sexo	IC (a)	IO (a)	Altura (cm)	Altura DP	Peso (kg)	IMC DP	Estadio puberal	LH (U/L)		E2 (pg/mL)	Testo (ng/dL)	IC início do tratamento (a)	HH Forma	Epilepsia
1	M	1,8	5	97,5	2,55	17	1,4	G2P3	3	77,3	-	1,9	283	6 P	Não
2	M	2	2,6	95	0,27	13,7	- 0,3	G2P2	<0,6	13	-	3	34	10 S	Sim
3	M	0,6	2	107,8	3,34	21	1,7	G2P2	<0,6	13	-	2,8	241	11 P	Não
4	M	0,5	1,5	80	0,2	12,6	2,1	G2P2	7,4 *	35,7*	-	1,16	233	20 S	Sim
5	M	5	12	142,6	2,93	35,5	0,9	G3P3	1,1	NA	-	8,25	473	30 S	Não
6	M	2	4	98	3,6	16,3	0,4	G2P3	0,6	19,1 #	-	2	98	5 S	Não
7	M	0,66	0,75	76	1,3	10,3	0,8	G4P1	1,4	30,8 #	-	0,75	138	19 S	Não
8	F	0,41	2	77	0,7	10,5	1	M2P1	1,4	23,3	<13	1,08	-	4 P	Não
9	F	0,75	6,8	95,5	3,21	16,8	1,9	M4P3	1,7	23,4	15	1,83	-	7 P	Não
10	F	0,41	1	77	0,7	10,7	0,9	M1P1	0,6	52 *	<13	0,91	-	8 P	Não
11	F	7	11	138	2,43	44	2,7	M3P3	4,3	15	59,8	8,1	-	13 S	Sim
12	F	0,5	6	106	4,7	21,2	2,3	M3P2	12*	59*	40	2,5	-	13 S	Não
13	F	1	4,2	94,3	1,1	15,6	1,5	M4P1	1,1	49,7 #	38,3	2,7	-	10 S	Não
14	F	0,5	8,8	106	3,39	22,1	2,7	M4P1	9,5	155,4	<13	3	-	11 S	Não

IC: Idade cronológica; IO: idade óssea; DP: desvio padrão; G: estadio da gônada; M: mama; P: estadio dos pêlos pubianos; E2: estradiol; T: testosterona; HH: hamartoma hipotalâmico; S: sessil; P: pendunculado *Exame por radioimunoensaio (RIA) # LH 2h após acetato de leuprorrelina *depot*; NA: não avaliado

Tabela 14 - Dados clínicos dos pacientes com puberdade precoce central por hamartoma hipotalâmico no final do tratamento com GnRHa e na vida adulta

No final do tratamento com GnRH									Na vida adulta							
Pacientes	Sexo	Duração do tratamento (a)	IC (a)	IO (a)	Altura (cm)	Altura DP	PH (cm)	Classificação IMC	IC (a)	Crescimento pós tratamento (cm)	AF (cm)	AF DP	AA (cm)	AA (DP)	IMC	% MG (RV M: 10-20 F: 18-28)
1	M	10	12,2	12	157,5	1,1	188,8	N	21,6	16	173,5	-0,2	159	-2,3	20,1	10
2	M	9,1	12,1	12,5	147,5	-0,1	172,9	N	21,2	32,5	180	0,8	175	0	19,4	4,1
3	M	8	14	14	159,6	-0,13	172,1	N	20,9	23,9	183,5	1,3	174	-0,1	18,7	4,6
4	M	5	10,5	11	142	0,37	176,6	S	26,5	21,7	163,7	-1,65	169	-0,8	21,6	NA
5	M	3,33	11,7	13,5	157	1,6	174	N	23	14	171	-0,5	177,5	0,4	23,8	16,5
6	M	9	11	12,5	162,4	3,1	190,4	O	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7	M	9,7	11	9,5	150,5	1,3	195,7	N	15,6	24,7	175,2	0,1	169	-0,9	18,7	8,7
8	F	9,7	10,7	10,3	138,6	-0,3	158,6	N	20	15,4	154	-1,4	156,7	-0,9	24,8	36,1
9	F	8,6	10,4	13,3	157,2	3	162,5	O	24,8	11,5	169,5	1,2	164	0,3	27,7	36,6
10	F	9	10	12,2	151,5	2,4	162,5	O	24,5	10	161,5	-0,2	157	-0,9	25,3	37,9
11	F	3	11	13	151	1,9	157,6	O	22	12,3	163,3	0,2	158,5	-0,6	31,1	46,7
12	F	9,5	11,8	NA	NA	NA	NA	NA	31,4	NA	164	0,3	165	-1	35,4	NA
13	F	8,2	10,9	12,5	140,5	-0,1	149,3	O	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
14	F	7,3	10,4	12	146,5	1,2	158,9	O	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

IC: Idade cronológica; IO: idade óssea; DP: desvio padrão; IMC: índice de massa corporea; N: normal; S: sobrepeso; O: obeso; AP: altura predita (Bayley-Pinneau tabela adequada para IO); AF: altura final; MG: massa gorda; ND: não disponível; NA: não avaliado

Tabela 15 - Dados laboratoriais hormonais e metabólicos dos pacientes com puberdade precoce central causado por hamartoma hipotalâmico na vida adulta

Pacientes	Sexo	LH (U/L)	FSH (U/L)	TT (ng/dL)	E ₂ (pg/mL)	DHEA-S (ng/mL)	Δ4 (ng/mL)	P (ng/mL)	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerídes (mg/dL)	HOMA-IR
1	M	7.6	6.2	830	-	-	-	-	152	36	106	48	1.4
2	M	5.9	6.1	812	-	-	-	-	142	52	80	52	NA
3	M	3.1	2.8	716	-	-	-	-	90	42	40	42	0.1
4	M	1.4	2.1	266	-	-	-	-	NA	NA	NA	NA	NA
5	M	9.2	2.7	843	-	-	-	-	106	38	55	31	1.0
6	M	3.4	2.4	467	-	-	-	-	109	38	63	41	1.1
7	F	4.3	5.2	< 12	76.7	1480	< 0.5	8	143	62	66	74	NA
8	F	2.8	3.9	14	<15	2020	1.1	12.4	257	74	158	127	2.1
9*	F	9.7	5.7	35.5	26.7	195.3	2.6	15.6	216	60	141	74	3.4
10	F	2.9	3	18	123.5	1240	1.1	8.5	144	51	79	72	5.3
11	F	4.8	4.1	13	87	1230	1.7	5.7	187	67	108	59	2.4
RV		M: 1.7-8.6 F: 2.4-12.8	1.5-12.4	M: 249-836 F: < 48	< 10 - 122	1480 - 4070	0.25 - 2.2	1.7 - 27	< 200	>45	< 100	< 150	< 3.8

*Uso de anti-contraceptivo oral: TT: testosterona total; P: progesterona no 21º dia do ciclo menstrual, NA: não avaliado; RV: valor de referência

8 REFERÊNCIAS

8 REFERÊNCIAS

1. Palmert MR, Boepple PA. Variation in the timing of puberty: clinical spectrum and genetic investigation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:2364–8.
2. Gajdos Z, Hirschhorn JN, Palmert MR. What controls the timing of puberty? An update on progress from genetic investigation. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2009;16:16–24.
3. Plant T, Barker-Gibb M. Neurobiological mechanisms of puberty in higher primates. *Hum Reprod Updat*. 2004;10:67–77.
4. Macedo DB, Brito VN, Latronico AC. New Causes of Central Precocious Puberty: The Role of Genetic Factors. *Neuroendocrinology*, 2014;100(1):1–8.
5. Dauber A, Cunha-Silva M, Macedo D, Brito V, Abreu A, Roberts S, et al. Paternally Inherited DLK1 Deletion Associated With Familial Central Precocious Puberty . *J Clin Endocrinol Metab*. 2017;102(5):1557–67.
6. Utriainen P, Laakso S, Liimatta J, Jääskeläinen J. Premature Adrenarche – A Common Condition with Variable Presentation. *Horm Res Paediatr*. 2015;83:221–31.
7. Marshall W, Tanner J. Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Chill*. 1969;44:291–303.
8. Marshall W, Tanner J. Variations in pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Chill*. 1970;45:13–23.
9. Latronico AC, Brito VN, Carel J, Paulo DS, Robert H. Causes ,

- diagnosis , and treatment of central precocious puberty. LANCET Diabetes Endocrinol. Elsevier Ltd; 2016;8587(15):1–10.
10. Parent A, Teilmann G, Juul A, Skakkebaek N, Toppari J, Bourguignon J. The Timing of normal puberty and age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends and changes after migration. Endocrinol Rev. 2003;24:668–93.
 11. Carel J-C, Léger J. Precocious puberty. N Engl J Med. 2008;358:2366–77.
 12. Styne, Dennis Grumbach M. Puberty: Ontogeny, Neuroendocrinology Physiology and Disorders. Williams Textbook of Endocrinology. 2011. p. 1054–201.
 13. Fuqua JS. Treatment and outcomes of precocious puberty: An update. J Clin Endocrinol Metab. 2013;98(6):2198–207.
 14. Partsch C-J, Heger S, Sippell WG. Management and outcome of central precocious puberty. Clin Endocrinol (Oxf). 2002;56:129–48.
 15. Teles M, Bianco S, Brito VN, Trarbach E, Kuohung W, Xu S. A GPR54-Activating mutation in a patient with central precocious puberty. N Engl J Med. 2008;358:709–15.
 16. Silveira L, Noel S, Silveira-Neto A, Abreu AP, Brito VN, Santos M. Mutations of the KISS1 gene in disorders of puberty. J Clin Endocrinol Metab. 2010;95:2276–80.
 17. 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.

18. Simon D, Ba I, Mekhail N, Ecosse E, Paulsen A, Zenaty D, et al. Mutations in the maternally imprinted gene MKRN3 are common in familial central precocious puberty. *Eur J Endocrinol*. 2016;174(1):1–8.
19. Valadares LP, Meireles CG, Toledo IP De, Abreu AP, Carroll RS, Latronico AC, et al. MKRN3 Mutations in Central Precocious Puberty : A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Endocr Soc*. 2019;3(January):979–95.
20. Macedo DB, Abreu AP, Reis ACS, Montenegro LR, Dauber A, Beneduzzi D, et al. Central Precocious Puberty That Appears to Be Sporadic Caused by Paternally Inherited Mutations in the Imprinted Gene Makorin Ring Finger 3. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(June):1097–103.
21. Moon YS, Smas CM, Lee K, Villena JA, Kim K, Yun EJ, et al. Mice Lacking Paternally Expressed Pref-1 / Dlk1 Display Growth Retardation and Accelerated Adiposity. *Mol Celulas Biol*. 2002;22(15):5585–92.
22. Gomes L, Cunha-silva M, Crespo R, Ramos CO, Montenegro LR, Canton A, et al. DLK1 is a novel link between reproduction and metabolism . *J Clin Endocrinol Metab*. 2018;nov(19).
23. Macedo DB, Franca MM, Montenegro LR, Cunha-silva M, Best DS, Abreu P, et al. Central Precocious Puberty Caused by a Heterozygous Deletion in the MKRN3 Promoter Region. *Neuroendocrinology*. 2018;May(15).
24. Cukier P, Castro LHM, Banaskiwitz N, Teles LR, Ferreira LRK, Adda CC, et al. The benign spectrum of hypothalamic hamartomas: Infrequent epilepsy and normal cognition in patients presenting with central precocious puberty. *Seizure*. BEA Trading Ltd; 2013;22(1):28–32.

-
25. Soriano-Guillén L, Argente J. Pubertad precoz central: aspectos epidemiológicos, etiológicos y diagnóstico-terapéuticos. *An Pediatr.* 2011;74(336):e1–13.
 26. Jung H, Parent A, Ojeda S. Hypothalamic hamartoma : a paradigm / model for studying the onset of puberty. *Endocr Dev.* 2005;8:81–93.
 27. Lakshman R, Forouhi N, Luben R, Bingham S, Khaw K, Wareham N, et al. Association between age at menarche and risk of diabetes in adults: results from the EPIC-Norfolk cohort study. *Diabetologia.* 2008;51:781–6.
 28. Lakshman R, Forouhi N, Sharp S, Luben R, Bingham S, Khaw K, et al. Early age at menarche associated with cardiovascular disease and mortality. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94:4953–60.
 29. He C, Zhang C, Hunter D, HanKinson S, Buck Louis G, Hediger M, et al. Age at menarche and risk of type 2 diabetes: results from two large prospective cohorts. *Am J Epidemiol.* 2009;171:334–44.
 30. Elks C, Perry J, Sulem P. Thirty new loci for age at menarche identified by a meta-analysis of genome-wide association studies. *Nat Genet.* 2010;42:1077–85.
 31. Macedo DB, Cukier P, Mendonca BB, Latronico AC, Brito VN. Avanços na etiologia, no diagnóstico e no tratamento da puberdade precoce central. *Arq Bras Endocrinol Met.* 2014;58(2):108–17.
 32. Carel J-C, Eugster E a, 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.
 33. Bangalore K, John K, Alan SF, Karen DR, Popovic J, Houk CP, et al.

- Use of Gonadotropin-Releasing Hormone Analogs in Children : Update by an International Consortium. *Horm Res Paediatr.* 2019;Jul(18):1–16.
34. Eugster EA. Treatment of Central Precocious Puberty. *J Endocr Soc.* 2019;3(January):965–72.
35. Carel J-C, Lahlou N, Jaramillo O. Treatment of central precocious puberty by subcutaneous injections of leuporelin 3-month depot (11.25 mg). *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(9):4111–6.
36. Bertelloni S, Massart F, Einaudi S, Wasniewska M, Miccoli M, Baroncelli G. Central Precocious Puberty : Adult Height in Girls Treated with Quarterly or Monthly Gonadotropin-Releasing Hormone Analog Triptorelin. *Horm Res Paediatr.* 2015;84(6):396–400.
37. Lee PA, Klein K, Mauras N, Neely EK, Bloch CA, Larsen L, et al. Efficacy and Safety of Leuprolide Acetate 3-Month Depot 11 . 25 Milligrams or 30 Milligrams for the Treatment of Central Precocious Puberty. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(May):1572–80.
38. Neely EK, Hintz R, Parker B. Two-year results of treatment with depot leuprolide acetate for central precocious puberty. *J Pediatr.* 1992;121(4):634–40.
39. Manasco P, Pescovitz O, Blizzard R. Local reactions to depot leuprolide therapy for central precocious puberty. *J Pediatr.* 1993;123:334–5.
40. Guaraldi F, Beccuti G, Gori D, Ghizzoni L. Long-term outcomes of the treatment of central precocious puberty. *Eur J Endocrinol.* 2016;174(3):R79–87.
41. Brito VN, Latronico AC, Cukier P, Teles MG, Silveira LFG, Arnhold IJP,

- et al. Factors determining normal adult height in girls with gonadotropin-dependent precocious puberty treated with depot gonadotropin-releasing hormone analogs. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(7):2662–9.
42. Willemsen R, Elleri D, Williams R, Ong K, Dunger D. Pros and cons of GnRHa treatment for early puberty in girls. *Nat Rev Endocrinol.* 2014;10(6):352–63.
43. Bouvattier C, Coste J, Rodrique D, Teinturier C, Carel J-C, Chaussain J, et al. Lack of effect of GnRH agonists on final height in girls with advanced puberty: a randomized long-term pilot study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(10):3575–8.
44. Cassio A, Cacciari E, Balsamo A, Bal M, Tassinari D. Randomised trial of LHRH analogue treatment on final height in girls with onset of puberty aged 7.5-8.5 years. *Arch Dis Child.* 1999;81(4):329–32.
45. 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.
46. Chiocca E, Dati E, Baroncelli G, Mora S, Parrini D, Erba P. Body mass index and body composition in adolescents treated with gonadotropin-releasing hormone analogue triptorelin depot for central precocious puberty: data at near final height. *Neuroendocrinology.* 2009;89:441–7.
47. 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.

-
48. 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.
 49. 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.
 50. Sorensen K, Mouritsen A, Mogensen S, Aksglaede L, Juul A. Insulin Sensitivity and Lipid Profiles in Girls with Central Precocious Puberty before and during Gonadal Suppression. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(August):3736–44.
 51. Van Der Sluis IM, Boot AM, Krenning EP, Drop SLS, De Muinck Keizer-Schrama SMPF. 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.
 52. Antoniazzi F, Zamboni G, Bertoldo F, Lauriola S, Mengarda F, Pietrobelli A, et al. Bone mass at final height in precocious puberty after gonadotropin-releasing hormone agonist with and without calcium supplementation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(3):1096–101.
 53. Mendle J, Turkheimer E, Emery RE. Detrimental psychological outcomes associated with early pubertal timing in adolescent girls. *Dev Rev.* 2007;27(2):151–71.
 54. Yang W, Ko K, Lee K, Hwang I, Oh Y. The different effects of gonadotropin-releasing hormone agonist therapy on body mass index

- and growth between normal-weight and overweight girls with central precocious puberty. *Ann Pediatr Endocrinol Metab.* 2017;22(1):49–54.
55. Arcari A, Gryngarten M, Freire A, Ballerini M, Ropelato M, Bergada I, et al. Body mass index in girls with idiopathic central precocious puberty during and after treatment with GnRH analogues . *Int J Pediatr Endocrinol.* 2016;Aug(5).
56. Diaz A, Laufer M, Breech L. Menstruation in Girls and Adolescents : Using the Menstrual Committee on Adolescence. *Pediatrics.* 2006;118(5):2245–50.
57. Franceschi R, Gaudino R, Marcolongo A. Prevalence of polycystic ovary syndrome in young women who had idiopathic central precocious puberty. *Fertil Steril.* 2010;93:1185–91.
58. Heger S, Partsch CJ, Sippell WG. Long-term outcome after depot gonadotropin-releasing hormone agonist treatment of central precocious puberty: final height, body proportions, body composition, bone mineral density, and reproductive function. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(12):4583–90.
59. Carel J-C, 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. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:1973–8.
60. Rosenfield RL. The Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome in Adolescents. *Pediatrics.* 2015;136(6):1154–65.
61. Tanner J, Goldstein H, Whitehouse R. Standards for children's height at ages 2–9 years allowing for height of parents. *Arch Dis Child.* 1970;45:755–62.

-
62. Borecki I, Higgins M, Schreiner P, Arnett D, Mayer-Davis E, Hunt S, et al. Evidence for multiple determinants of the body mass index: the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Obes Res.* 1998;6:107–14.
 63. Kuczmarski R, Ogden C, Guo S, Grummer-Strawn L, Flegal K, Mei Z, et al. 2000 CDC growth charts for the United States: methods and development. *Vital Heal Stat.* 2002;246:1–190.
 64. Ogden C, Flegal K. Changes in terminology for childhood overweight and obesity. *Natl Heal Stat Rep.* 2010;25:1–5.
 65. Azziz R, Carmina E, Dewailly D. Task Force on the Phenotype of the Polycystic Ovary Syndrome of the Androgen Excess and PCOS Society. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertil Steril.* 2009;91:456–88.
 66. Legro RS, Arslanian S a, Ehrmann D a, Hoeger KM, Murad MH, Pasquali R, et al. Diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(12):4565–92.
 67. Balen A, Laven J, Tan S, Dewailly D. Ultrasound assessment of the polycystic ovary : international consensus definitions . *Hum Reprod Updat.* 2003;9(6):505–14.
 68. Qu H, Li Q, Rentfro AR, Fisher-hoch SP, McCormick JB. The Definition of Insulin Resistance Using HOMA-IR for Americans of Mexican Descent Using Machine Learning. *PLoS One.* 2011;6(6):4–7.
 69. Lee P. Laboratory monitoring of children with precocious puberty. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 1994;148:369–76.

-
70. Brito VN, Batista M, Borges M, Latronico AC, Kohek M, Thirone A, et al. Diagnostic value of fluorometric assays in the evaluation of precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:3539–44.
 71. Resende E, Lara B, Reis J, Ferreira B, Pereira G, Borges M. 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.
 72. Greulich W, Pyle S. Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist. Stanford, CA: Stanford University Press; 1959.
 73. Copeland W, Shanahan L, Miller S, Costello EJ, Angold A, Maughan B. Do the negative effects of early pubertal timing on adolescent girls continue into young adulthood? *Am J Psychiatry.* 2010;167(10):1218–25.
 74. Cassio A, Bal M, Orsini L, Balsamo A, Sansavini S, Gennari M, et al. Reproductive outcome in patients treated and not treated for idiopathic early puberty: long-term results of a randomized trial in adults. *J Pediatr.* 2006;149(4):532–6.
 75. Feuillan PP, Jones J V, 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.
 76. Feuillan PP, Jones J V., Barnes KM, Oerter-Klein K, Cutler GB. Boys with precocious puberty due to hypothalamic hamartoma: Reproductive axis after discontinuation of gonadotropin-releasing hormone analog therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(11):4036–8.

-
77. Ramos CO, Latronico AC, Cukier P, Macedo DB, Bessa DS, Ivo MC, et al. Long-Term Outcomes of Patients with Central Precocious Puberty due to Hypothalamic Hamartoma after GnRHa Treatment : Anthropometric , Metabolic , and Reproductive Aspects. *Neuroendocrinology*. 2017;May(30).
 78. Palmert MR, Mansfield MJ, Crowley WF, Crigler JF, Crawford JD, Boepple P a. 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.
 79. Corripio R, Soriano Guillén L, Herrero F, Cañete R, Castro-Feioó 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;17.
 80. Smas C, Sul H. Pref-1 , a protein containing EGF- like repeats , inhibits adipocyte differentiation . *Cell*. 1993;73(4):725–34.
 81. Smas CM, Chen L, Zhao L, Latasa M, Sul HS. Transcriptional Repression of pref-1 by Glucocorticoids Promotes 3T3-L1 Adipocyte Differentiation *. *J Biol Chem*. 1999;274(18):12632–41.
 82. Jay N, Mj M, Rm B, Jr CWF, Schoenfeld D, Rhubin L, et al. Ovulation and menstrual function of adolescent girls with central precocious puberty after therapy with gonadotropin-releasing hormone agonists. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992;75(3):1992.
 83. Chiavaroli V, Liberati M, Antonio FD, Masuccio F, Capanna R, Verrotti A, et al. GNRH analog therapy in girls with early puberty is associated with the achievement of predicted final height but also with increased

- risk of polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol*. 2010;jul(163):55–62.
84. Jung H, Ojeda S. Pathogenesis of precocious puberty in hypothalamic hamartoma . *Horm Res*. 2002;57(2):31–4.
85. Parent A, Matagne V, Westphal M, Heger S, Ojeda S, Jung H. Gene expression profiling of hypothalamic hamartomas: a search for genes associated with central precocious puberty . *Horm Res*. 2008;69(2):2008.
86. Jung H, Neumaier Probst E, Hauffa B, Partsch C, Dammann O. Association of Morphological Characteristics with Precocious Puberty and/or Gelastic Seizures in Hypothalamic Hamartoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;88(10):4590–5.
87. Pescovitz O, Comite F, Hench K, Barnes K, McNemar A, Foster C, et al. The NIH experience with precocious puberty: diagnostic subgroups and response to short-term luteinizing hormone releasing hormone analogue. *J Pediatr*. 1986;108(1):47–54.
88. Baumann D, Landolt M, Wetterwald R, Dubuis J, Sizonenko P, Werder E. Psychological evaluation of young women after medical treatment for central precocious puberty . *Horm Res*. 2001;56(1-2):45–50.
89. Wojniusz S, Callens N, Sütterlin S, Andersson S, Schepper J De, Gies I, et al. Cognitive , Emotional , and Psychosocial Functioning of Girls Treated with Pharmacological Puberty Blockage for Idiopathic Central Precocious Puberty. *Front Psychol*. 2016;7(July):1–12.
90. Tais M, Inácio M, DB M, Ds B, AC L, Bb M, et al. Assessment of stress levels in girls with central precocious puberty before and during long-acting gonadotropin-releasing hormone agonist treatment : a pilot study

-
- . J Pediatr Endocrinol Metab. 2017;30(6):657–62.
91. Figueiredo R, LR P, MCGP A, MML E. Comportamento sexual , uso de preservativos e contracepção de emergência entre adolescentes do município de São Paulo : estudo com estudantes de escolas públicas de Ensino Médio. 2008.

9 APÊNDICES

Long-Term Outcomes of Patients with Central Precocious Puberty due to Hypothalamic Hamartoma after GnRHa Treatment: Anthropometric, Metabolic, and Reproductive Aspects

Carolina O. Ramos Ana C. Latronico Priscilla Cukier Delanie B. Macedo
Danielle S. Bessa Marina Cunha-Silva Ivo J. Arnhold Berenice B. Mendonça
Vinicius N. Brito

Unidade de Endocrinologia do Desenvolvimento, Disciplina de Endocrinologia e Metabolismo da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e Laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM 42 do Hospital das Clínicas, São Paulo, Brazil

Keywords

Central precocious puberty · Hypothalamic hamartoma · Gonadotropin-releasing hormone analogs · Final height · Body composition and gonadal function

Abstract

Background: Hypothalamic hamartoma (HH) represents the commonest cause of organic central precocious puberty (CPP). Follow-up of these patients in adulthood is scarce. **Objective:** To describe the anthropometric, metabolic, and reproductive parameters of patients with CPP due to HH before and after treatment with gonadotropin-releasing hormone analog (GnRHa). **Methods:** We performed a retrospective and cross-sectional study in a single tertiary center including 14 patients (7 females) with CPP due to HH. **Results:** The mean duration of GnRHa treatment was 7.7 ± 2.4 years in boys and 7.9 ± 2.1 years in girls. GnRHa treatment was interrupted at the mean chronological age (CA) of 12.1 ± 1.1 years in boys and 10.7 ± 0.5 years in girls. At the last visit, the mean CA of the male and female patients was 21.5 ± 3.2 and 24 ± 3.9 years, respectively. Eleven of the 14 patients reached

normal final height (FH) (standard deviation score -0.6 ± 0.9 for males and -0.6 ± 0.5 for females), all of them within the target height (TH) range. The remaining 3 patients had predicted height within the TH range. The mean body mass index and the percentage of body fat mass was significantly higher in females, with a higher prevalence of metabolic disorders. All patients presented normal gonadal function in adulthood, and 3 males fathered a child. **Conclusion:** All patients with CPP due to HH reached normal FH or near-FH. A higher prevalence of overweight/obesity and hypercholesterolemia was observed in the female patients. Finally, no reproductive disorder was identified in both sexes, indicating that HH per se has no deleterious effect on the gonadotropic axis in adulthood.

© 2017 S. Karger AG, Basel

Introduction

Hypothalamic hamartoma (HH) is a congenital non-neoplastic malformation constituted of heterotopic hypothalamic tissue located at the base of the cranium, un-

KARGER

© 2017 S. Karger AG, Basel

E-Mail karger@karger.com
www.karger.com/en

Vinicius Nahime Brito
Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 2552 andar Bloco 6
Cerqueira Cesar, São Paulo, SP 05403 900 (Brazil)
E-Mail vinicius.brito@hc.fm.usp.br

der the third ventricle, next to the tuber cinereum or the mammillary bodies [1]. Clinically, patients with HH can be asymptomatic or manifest variable endocrine and neurological phenotypes, varying from mild to severe clinical manifestation [1]. The main endocrine manifestation of HH is central precocious puberty (CPP), defined as onset of pubertal signs before the ages of 8 years in girls and 9 years in boys due to early activation of the gonadotropic axis [2, 3]. HH is the best-known organic cause of CPP in both sexes [4].

When symptomatic, together with CPP, patients with HH may also present neurological symptoms such as gelastic epilepsy, focal and generalized seizures, behavioral abnormalities, and cognitive disorders [5, 6]. Whole-exome sequencing identified mutations in the sonic hedgehog pathway (*PRKACA*, *GLI3*, and large copy number or loss-of-heterozygosity variance of multiple genes involved in this pathway) in 37% of patients with epilepsy due to HH [7].

Gonadotropin-releasing hormone analogs (GnRHa) have been the first-line treatment for CPP since the 1980s [8, 9]. However, the long-term data of patients with CPP due to HH after discontinuation of GnRHa treatment in adulthood are scarce [10, 11]. In this study, we analyzed the long-term follow-up data of 14 patients with CPP due to HH treated with GnRHa, focusing on anthropometric, metabolic, and reproductive outcomes in adulthood.

Patients and Methods

A retrospective longitudinal cohort study with a cross-sectional evaluation was performed after having been approved by the local ethics committee. Written informed consent was obtained from all participants. Since 1996, a total of 28 patients (18 females) with a diagnosis of organic CPP were evaluated and treated in our endocrine unit. Fifteen (53.6%) patients (7 females) had a diagnosis of HH; they were treated exclusively with GnRHa and were followed until final height (FH) or near-FH. One male patient had a local reaction to GnRHa and was excluded from the analyses.

All medical records of the 14 consecutive patients (7 females) with CPP due to HH who reached their FH or near-FH were systematically revised. Height was considered as final if the growth rate had been <0.5 cm/year during the preceding year, with bone age (BA) >15 years in females and >16 years in males [12].

All patients had pubertal development before the ages of 8 years in girls and 9 years in boys, accelerated growth velocity, advanced BA, and pubertal basal and/or GnRH-stimulated LH levels [3].

Serum LH, FSH, total testosterone, and estradiol levels were measured by radioimmunoassay (RIA) until 1991, by immunofluorometric assay (IFMA) (AutoDELFIA, Turku, Finland) until 2012, and by electrochemiluminescence assay (ECLIA) (Cobas e601; Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, USA) after this peri-

od. Basal LH >0.6 IU/L (IFMA) or >0.3 IU/L (ECLIA) were considered as pubertal levels [13, 14]. Progesterone, DHEA-S, and insulin levels were assessed by ECLIA. Androstenedione was assessed by liquid chromatography and mass spectrometry. All assays presented intra- and interassay coefficients of variation <7%. Pubertal response was considered when the GnRH-stimulated LH peak was >15 IU/L for girls and >25.5 IU/L for boys (RIA), >6.9 IU/L for girls and >9.6 IU/L for boys (IFMA), and >8 IU/L (ECLIA) [13, 14]. BA was assessed by the method of Greulich and Pyle [15].

All patients underwent at least one brain magnetic resonance imaging (MRI) study which included pre- and postgadolinium enhanced sagittal T1-weighted images as well as coronal T1- and T2-weighted images with 3-mm slices [16]. HH was diagnosed by the finding of a non-contrast-enhancing mass in the tuber cinereum region, isointense on T1-weighted images and iso- or slightly hyperintense on T2-weighted images. HH was classified according to shape as pedunculated (attached to the tuber cinereum without hypothalamus displacement) or sessile (broad-based hypothalamus attachment) [17].

GnRHa (depot leuporelin acetate 3.75 mg or 11.25 mg) was administered via subcutaneously or intramuscularly every 28 or 84 days, respectively. Clinical and laboratory parameters were monitored every 3 months to assess the regression or stabilization of secondary sexual characteristics, reduced growth velocity, and suppressed sexual steroids levels with basal and/or GnRH-stimulated LH levels at prepubertal range (basal LH <0.6 IU/L for IFMA and <0.2 IU/L for ECLIA; LH 120 min after GnRHa <4 IU/L) [18]. BA was assessed yearly. GnRHa treatment was discontinued when normal puberty would be expected (10–14 years) and, ideally, when reaching normal height for chronological age (CA) and BA. Predicted height (PH) was calculated using Bayley-Pinneau tables for average BA at diagnosis and at interruption of GnRHa treatment [19]. Target height (TH) was derived from parents' height measurements and determined by mid parental height minus 6.5 cm for girls and plus 6.5 cm for boys. TH range was established as TH $\pm$ 8.5 cm [20, 21].

The body mass index (BMI) (weight [kg]/square of height [m]) was calculated using the anthropometric measurements documented in the CHS database. The BMI standard deviation score (SDS) was calculated at diagnosis, at discontinuation of GnRHa treatment, and in adulthood using the software GrowthXP (<http://www.growthxp.com/who/demo/index-english.html>). Among children and adolescents (<18 years), BMI SDS >1 and >2 was used to define overweight and obesity, respectively [22]. For adult BMI calculation, the BMI according to the WHO criteria was applied: underweight <18.5, normal weight 18.5–24.9, overweight 25.0–29.9, and obesity >30 [23].

The assessment of body composition was measured using multifrequency bioelectrical impedance analysis (In-Body 720; Biospace, Seoul, Korea). This method analyzes body composition by plethysmography multifrequency, which makes body readings using eight electrodes measuring the resistance in five specific frequencies and reactance in three distinct frequencies.

Metabolic parameters were assessed by measurement of fast glucose, insulin, HOMA-IR, total cholesterol and fractions (HDL and LDL), and triglycerides levels. HOMA-IR >3.80 indicates insulin resistance [24]. Blood pressure was assessed in all patients, and hypertension was defined as a systolic blood pressure $\geq$ 140 mm Hg and a diastolic blood pressure $\geq$ 90 mm Hg.

After the discontinuation of GnRHa treatment, the resumption of menarche, menstrual cycle pattern, underachievement of pregnancy, and birth of live fetus were documented in females. Reproductive function in females in adulthood was evaluated by measurement of gonadotropin and estradiol as well as uterine length, ovarian morphology through pelvic ultrasound at the follicular phase, and progesterone levels at the luteal phase. Polycystic ovarian morphology was defined by the presence of ≥ 12 follicles 2–9 mm in diameter and/or an increased ovarian volume >10 mL (without a cyst or dominant follicle) [25].

Clinical hyperandrogenism signs, including acne (severity and localization) as well as presence and degree of hirsutism (scored by the Ferriman-Gallwey scale) were also evaluated. Laboratory hyperandrogenism was assessed by measurement of DHEA-S, total testosterone, and androstenedione serum levels at the follicular phase. Male patients were evaluated through testosterone and gonadotropin serum levels and if they fathered any children.

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using SigmaStat for Windows v.3.5 (Systat Software, Inc.). Data are presented as mean $\pm$ SDS and range. Comparisons among means of continuous variables were calculated using the Student *t* test and one-way analysis of variance followed by Tukey adjustment. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

Results

Initial Anthropometric and Biochemical Findings

The mean CA at onset of puberty was 1.8 ± 1.4 years in boys and 1.6 ± 2.5 years in girls, while the CA at the start of GnRHa treatment was 2.8 ± 2.5 years in boys and 2.9 ± 2.2 in girls. The initial mean BA was 5.7 ± 4 years in boys and 5 ± 3.9 years in girls. The mean height (SDS) for CA at the start of GnRHa treatment was 2 ± 1.3 cm for boys and 2.3 ± 1.4 cm for girls. At the onset of puberty, the mean BMI SDS was 1 ± 0.8 in boys and 1.9 ± 0.7 in girls. The clinical and hormonal data at the time of diagnosis are summarized in online supplementary Table S1 (see www.karger.com/doi/10.1159/000477584 for all online suppl. material).

All patients initially received leuporelin acetate 3.75 mg every 28 days subcutaneously. Four patients (cases 6, 7, 13, and 14; online suppl. Table S1) were switched to leuporelin acetate 11.25 mg every 84 days via subcutaneous injection. All patients reached adequate clinical and hormonal control with no need for higher GnRHa dosage. During treatment with GnRHa, clinical and hormonal parameters of adequate pubertal suppression were evaluated quarterly. An adequate clinical control revealed regression or stabilization of Tanner pubertal stage (assessed by breast development in girls and testicular size in boys) and normal growth velocity for CA in both ther-

apeutic regimens. Additionally, an adequate hormonal suppression, assessed by basal LH and sex steroids as well as GnRH-stimulated LH peak or LH levels 120 min after GnRHa administration, was achieved in all patients considering the criteria mentioned above (data not shown).

Neuroimaging and Neurological Evaluation

HH was identified by MRI in all patients and showed distinct size and shape. The HH diameter ranged from 5 to 30 mm in boys and from 4 to 13 mm in girls. Regarding the shape, 5 of the 14 HH were classified as pedunculated (2 boys and 3 girls). All patients underwent at least two MRI assessments within intervals of 4–6 years, and no changes in size or shape were identified. Two male patients (cases 2 and 4; online suppl. Table S1) and 1 female patient (case 11; online suppl. Table S1) had generalized epilepsy and were under antiepileptic therapy (Table 1). Strikingly, only 1 female patient (case 11) presented medically uncontrolled progressive seizures, which were initially gelastic (brief spells of laughter), later evolving to focal and generalized seizures. She underwent surgical treatment (radiofrequency ablation) without complete resolution of seizures. At present this patient does not present adequate control of seizures even under antiepileptic agents.

Anthropometric Data after GnRHa Treatment

The mean duration of GnRHa treatment was 7.7 ± 2.4 years in boys and 7.9 ± 2.1 years in girls. The mean CA at the end of GnRHa treatment was 12.1 ± 1.1 years in boys and 10.7 ± 0.5 years in girls, while mean BA at the end of treatment was 12.1 ± 1.4 years in boys and 12.2 ± 1 years in girls. The mean height (SDS) at the end of treatment was 1 ± 1 in males and 1.3 ± 1.2 in females. Interestingly, the mean BMI SDS at the end of treatment in the males was significantly lower than that in the females (0.4 ± 1.3 versus 2.1 ± 0.7 ; $p < 0.001$).

At the last visit, the mean CA of the male and female patients was 21.5 ± 3.2 years and 24.5 ± 3.8 years, respectively. The duration of follow-up from interruption of GnRHa treatment to the last visit was 9.6 ± 3.6 years for males and 13.6 ± 3.6 years for females.

Eleven (6 males and 5 females) of the 14 patients reached their FH, while the remaining 3 patients reached their near-FH and were not included in the statistical analysis. Considering only patients who reached their FH, mean total posttreatment growth until reaching FH was 22.1 ± 6.1 cm and 12.3 ± 2 cm in males and females, respectively. The mean FH was 174.5 ± 6.9 cm (SDS ranging from -1.6 to $+1.3$) in males and 162.5 ± 5 cm (SDS

Table 1. Clinical and laboratory data of 14 patients with central precocious puberty due to hypothalamic hamartoma at the end of GnRHa treatment and in adulthood

Case No.	Sex	Treatment duration, years	At the end of GnRHa therapy							In adulthood							
			CA, years	BA, years	height, cm	height SDS	PH, cm	BMI	BMI SDS	CA, years	post-treatment growth, cm	FH, cm	FH SDS	TH, cm	TH SDS	BMI	FM, % ¹
1	M	10.0	12.2	12.0	157.5	1.1	188.8	18.5	0.4	21.6	16.0	173.5	-0.2	159.0	-2.3	20.1	10.0
2	M	9.1	12.1	12.5	147.5	-0.1	172.9	16.0	-1.3	21.2	32.5	180.0	0.8	175.0	0	19.4	4.1
3	M	8.0	14.0	14.0	159.6	-0.13	172.1	16.2	-1.5	20.9	23.9	183.5	1.3	174.0	-0.1	18.7	4.6
4	M	5.0	10.5	11.0	142.0	0.37	176.6	20.3	1.6	26.5	21.7	163.7	-1.65	169.0	-0.8	21.6	-
5	M	3.33	11.7	13.5	157.0	1.6	174.0	18.9	0.7	23.0	14.0	171.0	-0.5	177.5	0.4	23.8	16.5
6	M	9.0	11.0	12.5	162.4	3.1	190.4	24.3	2.6	-	-	-	-	-	-	-	-
7	M	9.7	11.0	9.5	150.5	1.3	195.7	16.0	-0.1	15.6	24.7	175.2	0.1	169.0	-0.9	19.1	8.7
Mean		7.7	12.1	12.1	153.8	1.0	181.5	18.6	0.4	21.5	22.1	174.5	0	171.2	-0.6	20.5	8.5
SDS		2.4	1.1	1.4	6.8	1.0	9.1	2.8	1.3	3.2	6.1	6.9	0.9	5.8	0.9	1.7	4.5
8	F	9.7	10.7	10.3	138.6	-0.3	158.6	19.2	0.9	20.0	15.4	154.0	-1.4	156.7	-0.9	24.8	36.1
9	F	8.6	10.4	13.3	157.2	3.0	162.5	24.3	1.5	24.8	11.5	169.5	1.2	164.0	0.3	27.7	36.6
10	F	9.0	10.0	12.2	151.5	2.4	162.5	25.4	2.7	24.5	10.0	161.5	-0.2	157.0	-0.9	25.3	37.9
11	F	3.0	11.0	13.0	151.0	1.9	157.6	27.9	2.8	22.0	12.3	163.3	0.2	158.5	-0.6	31.1	46.7
12	F	9.5	11.8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	31.4	NA	164.0	0.3	165.0	-1.0	35.4	-
13	F	8.2	10.9	12.5	140.5	-0.1	149.3	26.5	2.7	-	-	-	-	-	-	-	-
14	F	7.3	10.4	12.0	146.5	1.2	158.9	23.3	2.1	-	-	-	-	-	-	-	-
Mean		7.9	10.7	12.2	147.5	1.3	158.2	24.4	2.1	24.5	12.3	162.5	0	158.4	-0.6	28.9	39.3
SDS		2.1	0.5	1.0	6.5	1.2	4.4	2.8	0.7	3.8	2.0	5.0	0.8	2.9	0.5	3.9	4.3

BA, bone age; BMI, body mass index; CA, chronological age; FH, final height; FM, fat mass; GnRHa, gonadotropin-releasing hormone analog; NA, not available; PH, predicted height (Bayley-Pinneau table for average bone age); SDS, standard deviation score; TH, target height. ¹ Reference values: 10–20% for males, 18–28% for females.

ranging from -1.4 to +1.1) in females. The FH of all patients was within their TH range. The remaining 3 patients with near-FH also presented PH at the last visit within the TH range. The comparison among PH at the end of GnRHa therapy, FH, and TH revealed no statistically significant difference in both sexes (Fig. 1).

The mean BMI SDS did not change from diagnosis to the end of GnRHa treatment in females with HH ($p > 0.05$). In adulthood, no males and 80% of females presented overweight or obesity. At the last visit, bioelectrical impedance analysis was performed in 5 males (cases 1, 2, 3, 5, and 7) and 4 females (cases 8, 9, 10, and 11). The mean percentage of body fat mass was $8.5 \pm 4.5\%$ for males (normal range, 10–20%) and $39.3 \pm 4.3\%$ for females (normal range, 18–28%).

Metabolic and Reproductive Outcomes

Hypercholesterolemia and high LDL levels were identified in 1 male patient (case 1) and 3 females (cases 9, 10, and 11). Insulin resistance was identified in 1 female patient (case 11). Diabetes and hypertension were not observed in this cohort (Table 2).

The mean interval between the discontinuation of GnRHa treatment and the occurrence of spontaneous menarche was 1.6 ± 0.9 years (range, 0.5–3.2 years). The mean CA at menarche was 12.3 ± 1.4 years (range, 11.2–15 years). All women reported regular menstrual cycles, and no clinical or laboratory evidence of hyperandrogenism was identified. The cross-sectional hormonal analyses performed at the last visit revealed basal serum LH, FSH, estradiol, androstenedione, and DHEA-S in women, and total testosterone in both sexes within normal reference ranges for each sex. Pelvic ultrasound showed normal uterine and ovarian volumes in all women. The mean uterine volume was 59 ± 21 cm³, and the right and left ovarian volumes were 5.8 ± 2.7 and 7.2 ± 2.9 cm³, respectively. Only 1 patient fulfilled the criteria for polycystic ovary (ovarian volume >10 mL), and 3 patients presented large unilateral ovarian cysts (>1 cm). Progesterone levels were assessed in all women in the luteal phase and were at ovulatory levels (10 ± 3.5 ng/mL) in all of them. Three male patients fathered children (cases 1, 2, and 3).

Table 2. Hormonal and metabolic profile of 11 patients with central precocious puberty due to hypothalamic hamartoma in adulthood

Case No.	Sex	LH, IU/L	FSH, IU/L	T, ng/dL	E ₂ , pg/mL	DHEA-S, ng/mL	Δ4, ng/mL	P, ng/mL	Total cholesterol, mg/dL	HDL, mg/dL	LDL, mg/dL	Triglycerides, mg/dL	HOMA-IR
1	M	7.6	6.2	830	–	–	–	–	152	36.0	106.0	48.0	1.4
2	M	5.9	6.1	812	–	–	–	–	142	52.0	80.0	52.0	NA
3	M	3.1	2.8	716	–	–	–	–	90	42.0	40.0	42.0	0.1
4	M	1.4	2.1	266	–	–	–	–	NA	NA	NA	NA	NA
5	M	9.2	2.7	843	–	–	–	–	106	38.0	55.0	31.0	1.0
7	M	3.4	2.4	467	–	–	–	–	109	38.0	63.0	41.0	1.1
Mean		5.1	3.7	655.7	–	–	–	–	119.8	42.6	68.8	42.8	0.9
SDS		2.7	1.7	216.4	–	–	–	–	23.3	5.6	22.6	7.1	0.5
8	F	4.3	5.2	<12	76.7	1,480.0	<0.5	8.0	143	62.0	66.0	74.0	NA
9	F	2.8	3.9	14	<15.0	2,020.0	1.1	12.4	257	74.0	158.0	127.0	2.1
10 ¹	F	9.7	5.7	35.5	26.7	195.3	2.6	15.6	216	60.0	141.0	74.0	3.4
11	F	2.9	3.0	18.0	123.5	1,240.0	1.1	8.5	144	51.0	79.0	72.0	5.3
12	F	4.8	4.1	13.0	87.0	1,230.0	1.7	5.7	187	67.0	108.0	59.0	2.4
Mean		4.9	4.6	18.9	78.5	1,233.1	1.7	10.0	189.4	62.8	110.4	81.2	3.3
SDS		2.5	0.7	11.4	44.1	592.8	0.8	3.5	43.6	7.6	35.1	23.6	1.2
RV	M	1.7–8.6	1.5–12.4	249–836	<10–	1,480–	0.25–	1.7–	<200	>45	<100	<150	<3.8
	F	2.4–12.8		<48	122	4,070	2.2	27					

NA, not available; RV, reference value; SDS, standard deviation score; T, testosterone. ¹ Under oral contraceptive. **Fig. 1.** Comparison of mean predicted height at the end of gonadotropin-releasing hormone analog (GnRHa) treatment, mean final height, and target height in patients with central precocious puberty due to hypothalamic hamartoma in females (a) and males

(b). There was no statistically significant difference between mean predicted height, final height, and target height in both sexes. ns, not significant.

Discussion

Long-term follow-up data of patients with CPP due to HH after GnRHa withdrawal are rarely reported [9, 10]. In the present study, we analyzed the anthropometric, metabolic, and reproductive features of 14 patients with CPP due to HH followed in a single tertiary center. The initial manifestation of pubertal signs typically occurred at a very early age, as expected in CPP due to HH, leading to an early initiation of GnRHa treatment. Indeed, all patients had adequate clinical and hormonal suppression of pubertal development even using lower dosages of leuporelin acetate (3.75 mg monthly or 11.25 mg quarterly). Good compliance, longer duration of treatment, and adequate CA and BA at the interruption of GnRHa contributed to the achievement of a FH within the TH range in all patients of both sexes.

Regarding BMI SDS and body composition, we observed a sex-specific pattern mainly in adult life. The female patients presented a higher prevalence of overweight/obesity at the start and at the end of GnRHa treatment and in adulthood, evaluated by both BMI and percentage of body fat mass. Similarly, Feuillan et al. [10] reported higher BMI values in females with CPP due to HH ($n = 18$) compared with patients with idiopathic CPP ($n = 32$) after GnRHa treatment. However, body composition was not evaluated in that study. Family history of obesity was positive in all but one female and no male patients in our cohort. Therefore, the speculation that HH per se plays a potential role in the physiopathology of obesity is tempting, but there is no evidence to support it. Moreover, the increased percentage of total fat mass reported by some authors reinforces the unfavorable effect of GnRHa on BMI and body composition in patients with idiopathic CPP [26–28].

Interestingly, in male patients, overweight/obesity was found in 2 of 7 patients only at the start and at the end of GnRHa treatment. In adulthood, all male patients had a normal BMI and a normal or low body fat mass percentage. Feuillan et al. [11] also found a lower frequency of obesity in male patients with CPP due to HH. The reason for this sex dimorphism is still unknown and must be explored in larger cohorts.

As expected, adverse metabolic profile, mainly hypercholesterolemia, was more prevalent in females and can be related to the abnormally high BMI and body fat mass percentage. All other metabolic parameters, such as glucose intolerance, were normal, except in 1 female patient (case 11) who presented insulin resistance.

There is a particular interest in the reproductive outcomes of these patients in adult life. It has been hypoth-

esized that patients with HH, mainly females, might be at increased risk for posttreatment reproductive disorders due to higher basal and GnRH-stimulated gonadotropin release and earlier age at puberty onset [10, 29]. Few studies followed CPP patients due to HH after discontinuation of GnRHa treatment and demonstrated normal recovery of the gonadotropic axis [10, 11]. In one study, comparison of reproductive aspects between 18 girls with CPP due to HH at CA and 32 girls with idiopathic CPP revealed higher LH levels before and at the end of GnRHa treatment in the group with CPP due to HH [10]. Also, a larger mean ovarian volume, a greater BMI, a higher incidence of oligomenorrhea, and neurological disorders in the group with CPP due to HH were identified [10]. Three patients reported the live birth of normal infants. Androgen levels were not assessed in that study. Conversely, in our cohort, all reproductive parameters appraised after interruption of GnRHa were normal, including regular menstrual cycles, normal ovarian morphology, and no clinical or laboratory evidence of hyperandrogenism. The higher risk of polycystic ovarian syndrome in CPP patients treated with GnRHa remains controversial [30, 31]. In our study, we were not able to evaluate the ovarian morphology systematically through transvaginal ultrasounds and perform quantitative studies on ovarian size, theca density, or number of large follicles, which represents a limitation to optimal ovarian description.

In another study which included 11 boys with HH after 8.8 ± 3.2 years of treatment with GnRH agonist, testosterone and gonadotropin levels returned to normal 1 year after pubertal blockage, and all patients reported normal sexual relations, but none of them desired offspring [11]. Additionally, 2 boys presented punctate echogenic foci suggestive of testicular calcifications [11]. In our cohort, hormonal levels after GnRHa interruption were normal in all 6 males, and 3 of them fathered a child.

GnRH and gonadotropin secretion patterns in patients with CPP due to HH in adult life have been little explored and are not completely understood. The early activation of the gonadotropic axis in childhood is apparently followed by adequate activity in adulthood. We speculated that sexual steroids exert an effective negative and positive feedback, allowing regular GnRH and gonadotropin pulsatility in both sexes during adult life. In our study, a normal cyclic gonadotropin secretion pattern was detected in females, demonstrated by regular and ovulatory menstrual cycles.

Also, the mechanism by which HH leads to CPP is not well established. Some hypotheses include the presence of GnRH-secreting neurons in the HH or the intrinsic pro-

duction of transforming growth factor α , an agonist of GnRH secretion, as shown in previous immunohistochemistry studies in animal models [5, 32]. In addition, little is known about the molecular etiology of HH, and a few studies showed differential gene expression in HH presenting with CPP (*IA-1*, *MEF2A*, *mGluR1*, *VILIP-1*, and *TSG-6*) compared with HH without CPP [33]. The morphology and/or position of other hypothalamic structures represent another element involved in the physiopathology of CPP in these cases [34].

CPP due to HH starts at a very early CA (<4 years in both sexes), contrasting with the emerging genetic causes of CPP (mainly *MKRN3* mutations), which manifest in a borderline CA (8.2 years in boys and 6 years in girls) [1, 35, 36].

In the current study, 3 of the 14 patients exhibited neurological abnormalities. We previously reported a neurological and neuropsychological evaluation of patients from this cohort demonstrating a low prevalence of epilepsy and normal cognition in most patients with CPP due to HH [6]. Epilepsy was present in only 2 males and 1 female under antiepileptic therapy (online suppl. Table S1).

Surgical treatment was also performed in 1 patient due to seizures uncontrolled by medical treatment. Reported patients with epilepsy, even the less severe forms of refractory epilepsy, had significantly lower intelligence quotient scores than their counterparts without epilepsy [6].

In conclusion, we present the longest follow-up of patients with CPP due to HH treated with GnRHa (up to 19.6 years in girls and 16 years in boys after discontinuation of treatment) including a complete anthropometric, hormonal, and metabolic profile. All patients reached normal FH, demonstrating the efficacy of GnRHa in preserving potential genetic height. A higher prevalence of overweight/obesity and metabolic abnormalities was observed in female patients. Finally, no reproductive disorder was identified in both sexes, indicating that HH per se has no deleterious effect on the gonadotropic axis in adulthood.

Disclosure Statement

The authors have nothing to disclose.

References

- 1 Brito VN, Latronico AC, Arnhold JJ, Lo LS, Domenice S, Albano MC, Fragoso MC, Mendonça BB: Treatment of gonadotropin dependent precocious puberty due to hypothalamic hamartoma with gonadotropin releasing hormone agonist depot. *Arch Dis Child* 1999;80:231–234.
- 2 Parent A, Teilmann G, Juul A, Skakkebaek N, Toppari J, Bourguignon J: The timing of normal puberty and age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends and changes after migration. *Endocrinol Rev* 2003;24:668–693.
- 3 Carel JC, Léger J: Precocious puberty. *N Engl J Med* 2008;358:2366–2377.
- 4 Latronico AC, Brito VN, Carel JC: Causes, diagnosis, and treatment of central precocious puberty. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2016;4:265–274.
- 5 Soriano-Guillén L, Argente J: Pubertad precoz central: aspectos epidemiológicos, etiológicos y diagnóstico-terapéuticos. *An Pediatr (Barc)* 2011;74:336.e1–e13.
- 6 Cukier P, Castro LH, Banaskiwitz N, Teles LR, Ferreira LR, Adda CC, da Costa Leite C, Arnhold JJ, Mendonça BB, Latronico AC, Brito VN: The benign spectrum of hypothalamic hamartomas: infrequent epilepsy and normal cognition in patients presenting with central precocious puberty. *Seizure* 2013;22:28–32.
- 7 Hildebrand MS, Griffin NG, Damiano JA, Cops EJ, Burgess R, Ozturk E, Jones NC, Leventer RJ, Freeman JL, Harvey AS, Sadleir LG, Scheffer IE, Major H, Darbro BW, Allen AS, Goldstein DB, Kerrigan JF, Berkovic SF, Heinzen EL: Mutations of the sonic hedgehog pathway underlie hypothalamic hamartoma with gelastic epilepsy. *Am J Hum Genet* 2016;99:423–429.
- 8 Mansfield MJ, Beardsworth DE, Loughlin JS, Crawford JD, Bode HH, Rivier J, Vale W, Kushner DC, Crigler JF Jr, Crowley WF Jr: Long-term treatment of central precocious puberty with a long-acting analogue of luteinizing hormone-releasing hormone. Effects on somatic growth and skeletal maturation. *N Engl J Med* 1983;309:1286–1290.
- 9 Carel JC, Eugster EA, Rogol A, Ghizzoni L, Palmert MR; ESPE-LWPES GnRH Analogs Consensus Conference Group, Antoniazzi F, Berenbaum S, Bourguignon JP, Chrousos GP, Coste J, Deal S, de Vries L, Foster C, Heger S, Holland J, Jahnukainen K, Juul A, Kaplowitz P, Lahlou N, Lee MM, Lee P, Merke DP, Neely EK, Oostdijk W, Phillip M, Rosenfield RL, Shulman D, Styne D, Tauber M, Wit JM: Consensus statement on the use of gonadotropin-releasing hormone analogs in children. *Pediatrics* 2009;123:e752–e762.
- 10 Feuillan PP, Jones JV, Barnes K, Oerter-Klein K, Cutler GB Jr: 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;84:44–49.
- 11 Feuillan PP, Jones JV, Barnes KM, Oerter-Klein K, Cutler GB Jr: Boys with precocious puberty due to hypothalamic hamartoma: reproductive axis after discontinuation of gonadotropin-releasing hormone analog therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4036–4038.
- 12 Klein KO, Barnes KM, Jones JV, Feuillan PP, Cutler GB Jr: Increased final height in precocious puberty after long-term treatment with LHRH agonists: the National Institutes of Health experience. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4711–4716.
- 13 Lee P: Laboratory monitoring of children with precocious puberty. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1994;148:369–376.
- 14 Brito VN, Batista MC, Borges MF, Latronico AC, Kohek MB, Thirone AC, Jorge BH, Arnhold JJ, Mendonça BB: Diagnostic value of fluorometric assays in the evaluation of precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3539–3544.
- 15 Greulich W, Pyle S: Radiographic Atlas of Skeletal Development of the Hand and Wrist. Stanford, Stanford University Press, 1959.
- 16 Debeneix C, Bourgeois M, Trivin C, Brauner R: Hypothalamic hamartoma: comparison of clinical presentation and magnetic resonance images. *Horm Res* 2001;56:12–18.

- 17 Boyko O, Curnes J, Oakes W, Burger P: Hamartomas of the tuber cinereum: CT, MR, and pathologic findings. *AJNR Am J Neuroradiol* 1991;12:309–314.
- 18 Macedo DB, Cukier P, Mendonça BB, Latronico AC, Brito VN: Avanços na etiologia, no diagnóstico e no tratamento da puberdade precoce central. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2014;58:108–117.
- 19 Bayley N, Pinneau SR: Tables for predicting adult height from skeletal age: revised for use with the Greulich-Pyle hand standards. *J Pediatr* 1952;40:423–441.
- 20 Marshall W, Tanner JM: Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child* 1969;44:291–303.
- 21 Marshall W, Tanner JM: Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child* 1970;45:13–23.
- 22 WHO Multicentre Growth Reference Study Group: WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age. *Acta Paediatr Suppl* 2006;450:76–85.
- 23 Borecki JB, Higgins M, Schreiner PJ, Arnett DK, Mayer-Davis E, Hunt SC, Province MA: Evidence for multiple determinants of the body mass index: the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Obes Res* 1998;6:107–114.
- 24 Qu HQ, Li Q, Rentfro AR, Fisher-Hoch SP, McCormick JB: The definition of insulin resistance using HOMA-IR for Americans of Mexican descent using machine learning. *PLoS One* 2011;6:e21041.
- 25 Legro RS, Arslanian SA, Ehrmann DA, Hoeger KM, Murad MH, Pasquali R, Welt CK; Endocrine Society: Diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:4565–4592.
- 26 Guaraldi F, Beccuti G, Gori D, Ghizzoni L: Long-term outcomes of the treatment of central precocious puberty. *Eur J Endocrinol* 2016;174:R79–R87.
- 27 Corripio R, Soriano-Guillén L, Herrero FJ, Cañete R, Castro-Feijó L, Escribano A, Espino R, Labarta JL, Argente J: 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;86:154–160.
- 28 Chiocca E, Dati E, Baroncelli GI, Mora S, Parrini D, Erba P, Bertelloni S: Body mass index and body composition in adolescents treated with gonadotropin-releasing hormone analogue triptorelin depot for central precocious puberty: data at near final height. *Neuroendocrinology* 2009;89:441–447.
- 29 Pescovitz OH, Comite F, Hench K, Barnes K, McNemar A, Foster C, Kenigsberg D, Loriaux DL, Cutler GB Jr: The NIH experience with precocious puberty: diagnostic subgroups and response to short-term luteinizing hormone releasing hormone analogue therapy. *J Pediatr* 1986;108:47–54.
- 30 Heger S, Müller M, Ranke M, Schwarz HP, Waldhauser F, Partsch CJ, Sippell WG: Long-term GnRH agonist treatment for female central precocious puberty does not impair reproductive function. *Mol Cell Endocrinol* 2006;254–255:217–220.
- 31 Franceschi R, Gaudino R, Marcolongo A: Prevalence of polycystic ovary syndrome in young women who had idiopathic central precocious puberty. *Fertil Steril* 2010;93:1185–1191.
- 32 Jung H, Ojeda SR: Pathogenesis of precocious puberty in hypothalamic hamartoma. *Horm Res* 2002;57(suppl 2):31–34.
- 33 Parent A, Matagne V, Westphal M, Heger S, Ojeda S, Jung H: Gene expression profiling of hypothalamic hamartomas: a search for genes associated with central precocious puberty. *Horm Res* 2008;69:114–123.
- 34 Jung H, Neumaier Probst E, Hauffa B, Partsch C, Dammann O: Association of morphological characteristics with precocious puberty and/or gelastic seizures in hypothalamic hamartoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:4590–4595.
- 35 Macedo DB, Abreu AP, Reis AC, Montenegro LR, Dauber A, Beneduzzi D, Cukier P, Silveira LF, Teles MG, Carroll RS, Junior GG, Filho GG, Guciev Z, Arnhold IJ, de Castro M, Moreira AC, Martinelli CE Jr, Hirschhorn JN, Mendonça BB, Brito VN, Antonini SR, Kaiser UB, Latronico AC: Central precocious puberty that appears to be sporadic caused by paternally inherited mutations in the imprinted gene *makorin ring finger 3*. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:E1097–E1103.
- 36 Bessa DS, Macedo DB, Brito VN, França MM, Montenegro LR, Cunha-Silva M, Silveira LG, Hummel T, Bergadá I, Braslavsky D, Abreu AP, Dauber A, Mendonça BB, Kaiser UB, Latronico AC: High frequency of *MKRN3* mutations in male central precocious puberty previously classified as idiopathic. *Neuroendocrinology* 2017;105:17–25.

Neuroendocrinology

Manuscript:	NEN-2019-9-3/R1 RESUBMISSION
Title:	Outcomes of Patients with Central Precocious Puberty due to Loss-of-Function Mutations in MKRN3 Gene After Treatment with Gonadotropin-Releasing Hormone Analog
Authors(s):	Carolina Oliveira Ramos (Corresponding Author), Delanie Bulcão Macedo (Co-author), Ana Pinheiro M. Canton (Co-author), Marina Cunha-Silva (Co-author), Sonir Roberto Rauber Antonini (Co-author), Monica Freire Stecchini (Co-author), Carlos Eduardo Seraphim (Co-author), Tania Rodrigues (Co-author), Berenice Bilharinho Mendonca (Co-author), Ana Claudia Latronico (Co-author), Vinicius Nahime Brito (Corresponding author)
Keywords:	, body composition, central precocious puberty, final height, gonadal function, Gonadotropin-releasing hormone, MKRN3
Type:	Research Article

Outcomes of Patients with Central Precocious Puberty Due to Loss-of-Function Mutations in the *MKRN3* Gene after Treatment with Gonadotropin-Releasing Hormone Analog

Carolina de Oliveira Ramos^a Delanie B. Macedo^a Ana Pinheiro M. Canton^a
Marina Cunha-Silva^a Sonir R.R. Antonini^b Monica Freire Stecchini^b
Carlos Eduardo Seraphim^a Tania Rodrigues^c Berenice Bilharinho Mendonça^a
Ana Claudia Latronico^a Vinicius Nahime Brito^a

^aUnidade de Endocrinologia do Desenvolvimento, Disciplina de Endocrinologia e Metabologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e Laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM 42 do Hospital das Clínicas, São Paulo, Brazil; ^bDepartamento de Pediatria, Escola de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brazil; ^cDepartamento de Medicina, Universidade Federal de Juiz de Fora- Campus Governador Valadares, Governador Valadares, Brazil

Keywords

Central precocious puberty · Gonadotropin-releasing hormone analog · *MKRN3* · Final height · Body composition · Gonadal function

Abstract

Introduction: Loss-of-function mutation of *MKRN3* represents the most frequent genetic cause of familial central precocious puberty (CPP). The outcomes of gonadotropin-releasing hormone analog (GnRHa) treatment in CPP patients with *MKRN3* defects are unknown. **Objective:** To describe the clinical and hormonal features of patients with CPP with or without *MKRN3* mutations after GnRHa treatment. Anthropometric, metabolic and reproductive parameters were evaluated. **Patients and Methods:** Twenty-nine female patients with CPP due to loss-of-function mutations in the *MKRN3* and 43 female patients with idiopathic CPP were included. Their medical records were retrospectively evaluated for clinical, laboratory, and imaging study, before, during,

and after GnRHa treatment. All patients with idiopathic CPP and 11 patients with CPP due to *MKRN3* defects reached final height (FH). **Results:** At the diagnosis, there were no significant differences between clinical and laboratory features of patients with CPP with or without *MKRN3* mutations. A high prevalence of overweight and obesity was observed in patients with CPP with or without *MKRN3* mutations (47.3 and 50%, respectively), followed by a significant reduction after GnRHa treatment. No significant differences in the values of mean FH and target height were found between the 2 CPP groups after GnRHa treatment. Menarche occurred at the expected age in patients with or without CPP due to *MKRN3* mutations (11.5 ± 1.3 and 12 ± 0.6 years, respectively). The prevalence of polycystic ovarian syndrome was 9.1% in patients with CPP due to *MKRN3* mutations and 5.9% in those with idiopathic CPP. **Conclusion:** Anthropometric, metabolic, and reproductive outcomes after GnRHa treatment were comparable in CPP patients, with or without *MKRN3* mutations, suggesting the absence of deleterious effects of *MKRN3* defects in young female adults' life.

© 2019 S. Karger AG, Basel

Introduction

Central precocious puberty (CPP) refers to the onset of pubertal signs before the age of 8 in girls and 9 in boys because of the early activation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis [1, 2]. The absence of organic abnormalities of the central nervous system or genetic causes classifies CPP as “idiopathic.” In contrast, several cerebral malformations and acquired insults can cause “organic” CPP [3]. CPP can also be classified as sporadic or familial forms [2, 3].

In the last decade, the genetic causes of CPP were identified in previously considered idiopathic CPP. Abreu et al. [4] identified loss-of-function mutations in *MKRN3* (makorin ring-finger 3 gene), in 33% of the families who had members with CPP. *MKRN3* is a maternally imprinted gene, located at chromosome 15q11.2 in the Prader-Willi syndrome critical region, and it encodes the makorin ring-finger protein 3 with a potential inhibitory effect on gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion [4]. The reduction in *MKRN3* expression in arcuate nucleus at the onset of puberty in mice, together with the identification of loss-of-function mutations in humans with familial CPP, implies that *MKRN3* might control puberty by repressing downstream targets instead of activating the GnRH neuronal network [4, 5]. To date, loss-of-function mutations in *MKRN3* represent the most frequent genetic cause of familial CPP [6, 7]. In addition, a rare deletion in the regulatory region of *MKRN3* was also described in 1 patient with apparently sporadic CPP [8].

Since the 1980, long-acting GnRH analog (GnRHa) has been the first-line treatment for CPP of all etiologies [9, 10]. Several studies on long-term outcomes after discontinuation of GnRHa treatment in patients with idiopathic CPP have been reported [9, 11–15]. It has been demonstrated that GnRHa treatment preserved the genetic adult height potential in patients with idiopathic CPP especially if diagnosed before the age of 6 years [10]. Overweightness and obesity are common at the diagnosis of CPP, and GnRHa treatment has no impact on the body mass index (BMI). However, an increase of body fat mass percentage has been demonstrated during GnRHa treatment [16, 17]. It has been demonstrated that gonadal function is completely recovered in patients after discontinuation of GnRHa treatment, and reports on the prevalence of polycystic ovarian syndrome (PCOS), in both treated and untreated women, still remain controversial [15, 17]. However, there is no report on the long-term follow-up of patients with CPP due to *MKRN3* mutations after GnRHa treatment.

In this study, we described the initial clinical and laboratory features of 29 CPP patients with CPP due to loss-of-function mutations of *MKRN3*, as well the long-term follow-up features after GnRHa treatment of a subset of 11 female patients, emphasizing on anthropometric, metabolic, and reproductive outcomes during early adulthood. Furthermore, their data were compared with those from 43 patients with idiopathic CPP treated with GnRHa.

Patients and Methods

This is an observational, retrospective, and longitudinal study of a multicenter cohort of 72 female patients with CPP (29 patients with CPP due to *MKRN3* mutations and 43 with idiopathic CPP). Fifty-one female patients were diagnosed and treated at the Developmental Endocrinology Unit of the Endocrinology and Metabolism Division of the Sao Paulo University Medical School, between 1985 and 2019. The remaining 21 female patients with CPP due to *MKRN3* mutations were referred from other national (Ribeirao Preto Medical School, University of Sao Paulo; Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas; private office Governador Valadares-MG; Universidade do Estado do Rio de Janeiro-RJ) and international Services (Division of Endocrinology, Diabetes, and Metabolism, Nemours Children's Clinic, Jacksonville, FL, USA; Department of Pediatrics, University Hospital Gasthuisberg, University of Leuven, Leuven, Belgium; Hospital de Niños R. Gutiérrez, Buenos Aires, Argentina; Department of Pediatric Endocrinology, University of Health Sciences, Elmrianiye Training and Research Hospital, Adem Yavuz Caddesi, Elmalikent Mah. Yekta Sok., Istanbul, Turkey; Pediatric Endocrine and Diabetes Unit the Chaim Sheba Medical Center, Israel) for genetic study at the Laboratory of Hormones and Molecular Genetics LIM/42 of the Medical School of the University of São Paulo and they followed their directions.

The diagnosis of CPP was based on pubertal development before the age of 8 years, accelerated growth velocity, advanced bone maturation, and pubertal basal and/or GnRH-stimulated LH levels [1]. All patients were treated exclusively with GnRHa, with monthly (3.75 mg leuporelin) and/or quarterly dosage (11.25 mg leuporelin). Height was considered final if the growth rate was >0.5 cm/year during the preceding year and bone age (BA) was >15 years [13].

Serum LH (luteinizing hormone), FSH (follicle stimulating hormone), total testosterone, and estradiol levels were measured by radioimmunoassay till 1991, immunofluorometric assay (IFMA, AutoDELFIA, Turku, Finland) till 2012, and electroimmunoluminescence assays (ECLIA, cobas e601, Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, USA) after 2012. Basal LH >0.6 IU/L (IFMA) or >0.3 IU/L (ECLIA) were considered as pubertal levels [18, 19]. Progesterone, DHEA-S (dehydroepiandrosterone sulfate), and insulin levels were assessed by ECLIA. Androstenedione was assessed by liquid chromatography and mass spectrometry. All assays presented intra- and inter-assay coefficients of variation $<7\%$. Pubertal response was considered when GnRH/GnRHa-stimulated LH peak was >15 IU/L for girls and >25.5 IU/L for boys (radioimmunoassay), >6.9 IU/L for girls and >9.6 IU/L for boys

(IFMA), and >8 IU/L for both sexes (ECLIA) [18, 19]. BA was assessed using the Greulich and Pyle's method [20].

All patients underwent brain magnetic resonance imaging study, which included pre- and post-gadolinium-enhanced sagittal T1-weighted images, as well as coronal T1- and T2-weighted images, with 3-mm slices [21].

The GnRHa depot (3.75 or 11.25 mg leuporelin acetate) was administered subcutaneously or intramuscularly, every 28 or 84 days respectively. The clinical and laboratory parameters were monitored every 3 months to assess the regression or stabilization of secondary sexual characters, adequate growth velocity, and suppressed sexual steroids levels with basal and/or GnRH-stimulated LH levels at prepubertal range (basal LH <0.6 IU/L for IFMA and <0.2 IU/L for ECLIA; LH: 120 min after GnRHa <4 IU/L) [22]. BA was assessed yearly once. GnRHa treatment was discontinued when normal puberty could be expected (10–14 years) and, ideally, when normal height for chronological age (CA) and BA was reached. Target height (TH) was calculated from parents' height measurements and determined as follows: mid-parental height minus 6.5 cm for girls or plus 6.5 cm for boys. TH range was established as $TH \pm 8.5$ cm [23, 24].

The BMI (weight [kg]/square of height [m]) was calculated using documented anthropometric measurements. Among children and adolescents (<18 years), BMI percentiles were used to define overweightness (≥ 85 th) and obesity (≥ 95 th) [25]. For BMI calculation in adults, the index of body weight, according to the WHO criteria, was applied: underweight <18.5 kg/m², normal weight 18.5–24.9 kg/m², overweight 25.0–29.9 kg/m², and obesity >30 g/m² [26].

The assessment of body composition was done using multi-frequency bioimpedance analysis (In-Body 720, Biospace, Seoul, Korea); in this method, the body composition is analyzed by plethysmography multifrequency, in which body readings are made using 8 electrodes measuring the resistance in 5 specific frequencies and reactance in 3 specific frequencies.

Metabolic parameters were assessed by measuring fast glucose, insulin, HOMA-IR, total cholesterol and fractions (HDL and LDL), and triglycerides levels. Insulin resistance was considered to prevail at the value of HOMA-IR >3.80 [27]. Blood pressure was assessed in all patients and hypertension was defined with values of systolic blood pressure ≥ 140 mm Hg and diastolic blood pressure ≥ 90 mm Hg [25].

After the discontinuation of GnRHa treatment, resumption of menarche, menstrual cycle pattern, achievement of pregnancy, and birth of live fetus were documented in females. The reproductive function in females during adulthood was evaluated by the measurement of gonadotropins and estradiol at the follicular phase as well as uterine length, ovarian morphology through pelvic ultrasound at the follicular phase, and progesterone levels at the luteal phase. The polycystic ovarian morphology was defined by the presence of 12 or more follicles of 2–9 mm in diameter and/or an increased ovarian volume >10 mL (without a cyst or dominant follicle) in either ovary [28].

Signs of clinical hyperandrogenism, including acne (severity and localization) and presence and degree of hirsutism (scored by Ferriman-Gallwey scale), were also evaluated. Laboratory hyperandrogenemia was assessed by measuring DHEA-S, total testosterone, and androstenedione serum levels at the follicular phase. The diagnosis of PCOS was done according to Rotterdam's criteria [29].

Genetic Analysis

Genomic DNA was isolated from peripheral blood leukocytes of all patients and selected family members using standard procedures (salting-out method). The entire coding region (intronless gene) and the promoter region of *MKRN3* were amplified by polymerase chain reaction followed by automatic sequencing of the products using the Sanger method in all patients, according to previously published protocol [4, 8].

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using SigmaStat for Windows version 3.5, Systat Software, Inc. Data are presented as mean $\pm$ SDs or median and range. Comparisons among values of means of numerical variables were made using Student *t* test or Mann-Whitney U test, when appropriate. Categorical variables were compared using chi-square test. For statistical purposes, the percentages of overweight and obesity (categorical variables) in each group were grouped. Correlations between 2 variables were determined by Pearson's correlation coefficient analysis. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

Results

Clinical and Hormonal Data at the Onset of Puberty

The mean CA of onset of puberty was 5.9 ± 1.2 years and 6.4 ± 1.3 years in patients with CPP due to *MKRN3* mutations and idiopathic CPP groups respectively ($p = 0.12$). In addition, the mean BA at the onset of puberty was 9 ± 1.6 years and 10.5 ± 1.3 years in patients with CPP due to *MKRN3* mutation and idiopathic CPP groups respectively ($p < 0.001$). Familial history of precocious puberty was positive in all patients with CPP due to *MKRN3* mutations and 25.6% of those with idiopathic CPP. The mean height SDS at the diagnosis was 1.4 ± 0.9 in patients with CPP due to *MKRN3* mutation and 1.7 ± 1.1 in patients with idiopathic CPP ($p = 0.34$). At the onset of puberty, the prevalence of overweightness and obesity was observed in 47.3% of girls with CPP due to *MKRN3* mutations and 50% of those with idiopathic CPP.

At the diagnosis, mean basal LH was at pubertal levels in 96% of patients with CPP due to *MKRN3* mutations and in 73.1% of patients with idiopathic CPP (1.4 ± 0.9 vs. 1.7 ± 1.7 IU, $p = 0.35$). The mean GnRH-stimulated LH peak was at the pubertal range in all patients from both groups, 24.9 ± 19.8 vs. 18.7 ± 11.2 IU in patients with CPP due to *MKRN3* mutations and idiopathic CPP groups, respectively, $p = 0.8$. Mean basal FSH and estradiol levels before GnRHa treatment did not differ between groups, $p = 0.8$ and 0.17 , respectively. Clinical and hormonal data at the diagnosis are summarized in the Table 1.

In the 29 patients with CPP due to *MKRN3* mutations, 13 distinct inactivating mutations in the coding region of

Table 1. Initial clinical and hormonal features of female patients with CPP due to *MKRN3* loss-of-function mutations and idiopathic form

	CPP due to <i>MKRN3</i> mutation	Idiopathic CPP	<i>p</i> value
Number	29	43	
CA at pubertal onset, years, mean $\pm$ SD	5.9 $\pm$ 1.2	6.4 $\pm$ 1.3	0.12
CA at first visit, years, mean $\pm$ SD	6.8 $\pm$ 0.9	8.1 $\pm$ 1.3	<0.001
Pubertal stage			
Breast development	B2–B5	B2–B4	
Pubic hair	PH1–PH3	PH1–PH3	–
Menarche	None	3/43	
Familial CPP history, %	100	11/43 (25.6)	NA
Initial BA, years, mean $\pm$ SD	9 $\pm$ 1.6	10.5 $\pm$ 1.3	<0.001
Δ BA – CA, years, mean $\pm$ SD	2.1 $\pm$ 1.4	2.3 $\pm$ 1.2	0.7
Height, cm, mean $\pm$ SD	127.8 $\pm$ 8.2	135.6 $\pm$ 8.1	0.02
Height, mean $\pm$ SD	1.4 $\pm$ 0.9	1.7 $\pm$ 1.1	0.34
BMI, kg/m ² *	16.8 (15.6–19.3)	17.9 (12.2–22.6)	0.14
Overweight/obesity, %	47.3 (26.3/21)	50 (26.2/23.8)	0.16
Basal LH, IU/L, mean $\pm$ SD	1.4 $\pm$ 0.9	1.7 $\pm$ 1.7	0.35
LH peak, IU/L, mean $\pm$ SD	24.9 $\pm$ 19.8	18.7 $\pm$ 11.2	0.18
Basal FSH, IU/L, mean $\pm$ SD	4.6 $\pm$ 1.9	4.4 $\pm$ 2.8	0.8
Basal estradiol, ng/mL, mean $\pm$ SD	35.4 $\pm$ 22.1	27.8 $\pm$ 19.4	0.17

* Median (interval).

CPP, central precocious puberty; CA, chronological age; BA, bone age; BMI, body mass index; NA, not applicable.

MKRN3, and 1 deletion in the promoter region were identified. Twenty-two patients (75.8%) had severe mutations (18 frameshifts, 3 nonsense mutations, and 1 deletion) and 7 patients had missense mutations.

During GnRHa treatment, all patients with CPP patients, with or without *MKRN3* mutation, reached adequate clinical and hormonal controls, according to clinical and laboratory criteria mentioned earlier in this manuscript (data not shown).

Anthropometric Data after GnRHa Treatment and at the Final Height

Final height (FH) was achieved in 11 patients with CPP due to *MKRN3* mutations and in all patients with idiopathic CPP. In these patients, the mean duration of GnRHa treatment was 2.9 $\pm$ 0.9 and 2.6 $\pm$ 1.1 years in patients with CPP due to *MKRN3* mutation and idiopathic CPP, respectively, (p = 0.55). In the patients with CPP due to *MKRN3* mutations, the mean CA and BA at the end of GnRHa treatment was 10.6 $\pm$ 1 and 12.5 $\pm$ 0.9 years, respectively. In the idiopathic CPP group, the mean CA and BA at the end of GnRHa treatment was 10.9 $\pm$ 0.5 and 12.3 $\pm$ 0.7 years respectively. The mean height SDS at the end of treatment was 1.2 $\pm$ 1.3; and there was prevalence of

overweight, or obesity was present in 36.2% of patients with CPP due to *MKRN3* mutations group. In patients with idiopathic CPP, the mean height SDS at the end of treatment was 1.3 $\pm$ 1.1; and there was prevalence of overweight or obesity was present in 47.5% of the patients. There were no statistically significant differences in these variables between groups (p > 0.05; Table 2). At the last visit, the mean CA of the patients with CPP due to *MKRN3* mutations and idiopathic CPP was 18.6 $\pm$ 4 and 16.6 $\pm$ 3.2 years respectively (p = 0.14). The mean post-treatment growth until reaching FH was 9.6 $\pm$ 3.6 and 10.1 $\pm$ 3.5 cm in patients with CPP due to *MKRN3* mutations and idiopathic CPP, respectively, (p = 0.6). The mean FH was 157.6 $\pm$ 5.1 and 161.3 $\pm$ 6.5 cm in patients with CPP due to *MKRN3* mutation and idiopathic CPP groups respectively (p = 0.09). All but 1 patient (patient 9 – Table 3) with CPP due to *MKRN3* mutation were within their TH range. The FH of 42/43 patients was within their TH range in the idiopathic CPP group, and no statistically significant difference was found between mean FH and TH. With regard to the severity of *MKRN3* mutations, 10 out of 11 patients harbored severe mutations (7 frameshifts, 2 nonsense mutations, and 1 deletion in the promoter region) and 1 patient had a missense *MKRN3* mutation (Table 3).

Table 2. Clinical and hormonal data of female patients with CPP due to *MKRN3* loss-of-function mutations and idiopathic form at the end of GnRHa treatment, and at final height

	CPP due to <i>MKRN3</i> mutations	Idiopathic CPP	<i>p</i> value
Number	11	43	
At end of treatment, mean ± SD			
CA, years	10.6±1	10.9±0.5	0.1
BA, years	12.5±0.9	12.3±0.7	0.43
Δ BA – CA, years	2±1.2	1.4±0.8	0.1
Overweight/obesity, %	36.2	47.5	0.16
BMI, kg/m ² *	19.8 (15.9–29.3)	20.7 (15.5–30)	0.4
Height, cm	148±5.4	151.2±5.6	0.12
Height	1.2±1.3	1.3±1.1	0.68
Duration of treatment, years	2.9±0.9	2.6±1.1	0.55
At final height, mean ± SD			
CA, years	18.6±4	16.5±3.4	0.14
Age at menarche, years	11.5±1.3	12±0.6	0.1
Interval (age at menarche – end of GnRHa treatment), years	0.9±0.7	1.1±0.5	0.27
Post-treatment growth, cm	9.6±3.7	10.2±3.7	0.6
Height, cm	157.6±5.4	161.4±6.6	0.09
Height	–0.7±0.9	–0.15±1.1	0.1
Target height, cm	159.2±5.6	159±6	0.94
Target height	–0.5±0.9	–0.5±1	0.94
BMI, kg/m ² *	21.4 (17.4–36.8)	22.7 (17.4–31)	0.6
Overweight/obesity, %	27.3	33.3	0.16
%fat mass, mean ± SD, <i>n</i>	35.4±16.7 (3)	31.6±6.7 (28)	0.43
Metabolic abnormalities			
Insulin resistance, <i>n</i>	1/7	4/35	0.8
High LDL, <i>n</i>	2/7	3/35	0.2
Total metabolic dysfunction, <i>n</i> (%)	3/7 (42.8)	6/35 (17.1)	0.25
Irregular menstrual cycles, %	18.2	18.1	1.0
Hormonal data**, mean ± SD, <i>n</i>			
LH, IU/L*	4.5 (0.8–19; 6)	3.1 (1.3–35.5; 34)	0.5
FSH, IU/LS	4.2±1.9 (6)	4.9±1.6 (34)	0.3
Estradiol, pg/mL*	37.7 (17–247; 6)	59 (14.6–391; 34)	0.4
DHEA-S, ng/mL	2,166±1,875 (4)	2,100±884 (34)	0.9
Androstenedione, ng/mL	1±0.4 (3)	1.4±0.7 (34)	0.4
Total testosterone, ng/dL*	39.5 (12–93; 4)	31 (12–79; 34)	0.8
PCOS, %	9.1	5.9	0.4

* Median (interval).

** Reference values: LH: 2.4–12.8 IU/L; FSH: 1.5–12.4 IU/L; Estradiol: <10–122 pg/mL; DHEA-S: 1,480–4,070 ng/mL; androstenedione: 0.25–2.2 ng/mL; total testosterone: <48 ng/dL.

CPP, central precocious puberty; GnRHa, gonadotropin-releasing hormone analog; CA, chronological age; BA, bone age; BMI, body mass index; PCOS, polycystic ovarian syndrome.

The prevalence of overweight or obesity at the FH in patients with CPP due to *MKRN3* mutation was 27.3% (3/11). In this group, only 3 patients underwent body composition analysis with a high mean percentage of body fat mass (35.4 ± 13.6% – reference value: 18–28%). In the idiopathic CPP group, the prevalence of over-

weight and obesity at the FH was 34.8% (15/43) and the mean percentage of body fat mass was 31.6 ± 6.6%. The prevalence of categorical BMI percentiles and BMI revealed a significant decrease in the percentage of overweight and obesity from the diagnosis to FH in both groups (*p* < 0.05; Fig. 1).

Table 3. Genetic and clinical data of 11 patients with CPP due to *MKRN3* mutations after GnRHa treatment

Patient	<i>MKRN3</i> mutations	CA at last visit, years	Post treatment growth, cm	TH, cm	TH, SD	BMI	FH, cm	FH, SD
1	p.Pro161Argfs*10	20.6	9.5	153	-1.5	36.8	158.5	-0.6
2	p.Gln226Thrfs*6	29.9	8	161.5	-0.1	28.4	165	0.4
3	p.Glu256Glyfs*36	16.5	9	156.5	-0.9	23.4	153	-1.5
4	c.-150_-147delTCAG	16.3	9.9	163.5	0.2	21.4	162	0
5	p.Pro161Argfs*16	18.9	8.5	160.5	-0.3	19.4	160.5	-0.28
6	p.Pro161Argfs*10	16	7.5	159.5	-0.45	23.2	160.5	-0.28
7	p.Phe417Ile	14.6	13.5	156.2	-1	17.9	162	0
8	p.Pro161Profs*16	15.7	1.5	152	-1.7	31.3	149	-2.2
9	p.Ala162Glyfs*15	18	11.5	170	1.3	18.1	159	-0.53
10	p.Tyr391*	20	10	NA	NA	20.1	148.5	-2.2
11	p.Tyr391*	18	16.5	NA	NA	NA	156	-1

CPP, central precocious puberty; GnRHa, gonadotropin-releasing hormone analog; CA, chronological age; TH, target height; FH, final height; BMI, body mass index; NA, not available.

Fig. 1. Representation of the prevalence of categorical BMI at the diagnosis, at the end of GnRHa treatment, and at the FH in patients with CPP due to *MKRN3* mutations and idiopathic CPP. CPP; central precocious puberty; GnRHa, gonadotropin-releasing hormone analog.

Correlations between Variables Influencing FH

In patients with CPP due to *MKRN3* mutation, there were positive and significant correlations between FH and height SDS at the diagnosis and the end of GnRHa treatment ($r = 0.8$, $p = 0.005$, and $r = 0.76$, $p = 0.0063$ respectively).

Regarding FH of the 43 girls with idiopathic CPP, there were a positive and significant correlations between FH SDS and height SDS at the diagnosis and the end of GnRHa treatment ($r = 0.734$, $p < 0.0001$ and $r = 0.79$, $p < 0.001$, respectively), as well as between FH and post-treat-

ment growth after GnRHa ($r = 0.5$, $p = 0.0006$), and FH and TH ($r = 0.44$, $p = 0.004$).

Metabolic and Reproductive Outcomes

The long-term follow-up of the metabolic and reproductive parameters was done for a subset of patients with CPP: 7 patients with CPP due to *MKRN3* mutations and 35 patients with idiopathic CPP. In patients with CPP due to *MKRN3* mutations, insulin resistance was identified in 1 patient and high LDL levels were identified in 2 patients with high BMI, indicating that 3 out of 7 patients had

metabolic abnormalities; hypertriglyceridemia was not identified in these patients. In the 35 patients with idiopathic CPP, insulin resistance was identified in 4 patients (11.4%), high LDL levels in 3 patients (8.6%), and hypertriglyceridemia in 1 patient (2.8%; Table 2). Therefore, metabolic abnormalities were present in 17.1% of patients with idiopathic CPP. These metabolic abnormalities occurred in patients with normal and high BMI. Diabetes and hypertension were not observed in this cohort (Table 2).

In patients with CPP due to *MKRN3* mutation and those with idiopathic CPP, the mean interval between the discontinuation of GnRHa treatment and the occurrence of spontaneous menarche was 0.9 ± 0.7 and 1.1 ± 0.5 years, respectively, $p = 0.27$. In addition, the mean CA of menarche was 11.5 ± 1.3 and 12 ± 0.6 years for patients with CPP due to *MKRN3* mutations and those with idiopathic CPP, respectively, $p = 0.1$. Abnormal menstrual cycles were reported by 2 out of 11 (18.2%) patients with CPP due to *MKRN3* mutation and by 6/33 (18.1%) patients with idiopathic CPP. Clinical and/or laboratory criteria for hyperandrogenism were positive for 4 patients with CPP due to *MKRN3* mutations and for 34 patients with idiopathic CPP (Table 2). One patient with CPP due to *MKRN3* mutation and 4 patients with idiopathic CPP had hyperandrogenism. One patient with CPP due to *MKRN3* mutation and 6 patients with idiopathic CPP fulfilled criteria for polycystic ovarian (ovarian volume >10 mL) in pelvic ultrasound. One patient with CPP due to *MKRN3* mutation and 2 with idiopathic CPP group were positive for PCOS criteria, which was in accordance with the Rotterdam PCOS criteria [29]. Basal progesterone levels were at an ovulatory range in 2 and 6 patients with CPP due to *MKRN3* mutations and idiopathic CPP respectively. One patient became pregnant and conceived a healthy offspring. Clinical and laboratory data at adulthood are summarized in Table 2.

Discussion

Long-acting GnRHs are the treatment of choice for CPP, and outcomes after treatment of idiopathic CPP have been described in several studies [3, 10, 30]. In contrast, long-term follow-up of patients with CPP due to loss-of-function mutations of *MKRN3* after GnRHa withdrawal has not been reported so far [6, 31, 32]. In the present study, we have described the initial clinical and hormonal data of 29 female patients with CPP due to *MKRN3* mutations and long-term follow-up of a subset group (11

patients), taking into consideration anthropometric, metabolic, and reproductive features.

In this study, the mean CA of pubertal onset was similar in patients with CPP due to *MKRN3* mutations and in those with idiopathic CPP, confirming the data reported previously [31, 32]. In contrast with our data, Simon et al. [6] demonstrated that girls with CPP due to *MKRN3* mutation were younger at puberty onset than those without *MKRN3* mutation [6].

A systematic review and meta-analysis on *MKRN3* mutations concerning CPP, which was reported earlier, included 22 studies comprising 880 patients with CPP [32]; 89 (76 girls) of them had *MKRN3* defects [32]; in the pooled comparative analysis of clinical and biochemical data between girls and boys, the authors reported significant differences in clinical (age at pubertal onset and at diagnosis) and hormonal (basal FSH) parameters, which is related to sex-dimorphic characteristics. Conversely, we compared data between female patients with and without *MKRN3* mutations, and no clinical or laboratory parameter was indicative of harboring *MKRN3* defects. Regarding hormonal data, Macedo et al. [31] previously reported a higher level of mean basal FSH in girls with *MKRN3* mutations compared to those without *MKRN3* mutations.

Regarding family history, the meta-analysis showed a prevalence of *MKRN3* mutation of 19% in patients with familial CPP and 2% in patients with sporadic CPP [28]. In our cohort, the familial history of precocious puberty was positive in all patients with CPP due to *MKRN3* mutations and in 25.6% of patients with idiopathic CPP, suggesting that other genetic defects can be probably involved in the etiology of CPP. It must be noted that the high prevalence of familial history in patients with *MKRN3* mutations in our cohort must be interpreted cautiously, because familial history was an inclusion criterion to perform genetic analysis in some cases.

Whether or not the severity of *MKRN3* mutation has any influence on the clinical and hormonal phenotype of CPP remains unknown. Valadares et al. [32] showed that the age during diagnosis of CPP was significantly low in patients with severe *MKRN3* mutations. The impact of the subtype of *MKRN3* mutations on long-term follow-up of these patients was not evaluated in the present study because most of the patients (10/11) had severe mutations.

Patients with CPP caused by *MKRN3* mutations or idiopathic form were treated with a monthly or 3-month low dosage of leuporelin acetate, 3.75 or 11.25 mg, respectively, and the efficacy of GnRHa did not differ be-

tween these groups, resulting in satisfactory anthropometric outcomes. The FH within TH range was reached in all except 1 patient with CPP due to *MKRN3* mutations and in all but 1 patient with idiopathic CPP. In patients with CPP due to *MKRN3* mutations, we were not able to rule out that the father harboring *MKRN3* mutation had not been affected by CPP, which could negatively influence the TH. No statistically significant difference was found between mean FH and mean TH in treated patients having CPP due to *MKRN3* mutations and treated patients with idiopathic CPP. The present study is the first report on the FH of patients with CPP due to *MKRN3* mutations treated with GnRHa, indicating that *MKRN3* defect did not influence FH.

With regard to the BMI and body composition, the prevalence of overweightness and obesity during diagnosis of CPP was equally elevated in patients with and without *MKRN3* mutations, which is in accordance with several studies that reported high BMI during diagnosis of CPP [11, 12]. At the end of GnRHa treatment, the prevalence of overweight and obesity decreased in both groups. The effect of GnRHa treatment on BMI and body composition was explored in several studies, indicating that during GnRHa treatment, no significant mean or individual BMI-SDS change occurs [11, 12, 33, 34]. However, an increase in the percentage of total fat mass has been demonstrated during GnRHa treatment [16]. At the FH, it is noteworthy that a significant reduction in the prevalence of overweight or obesity was observed in both CPP groups. Other studies have also reported a reduction in BMI in patients with idiopathic CPP [17, 35]. These data suggest that changes in BMI and body composition were not influenced by *MKRN3* mutations. The longitudinal analysis of categorical BMI in both groups revealed similar evolution. This information was lacking in previous studies on *MKRN3* mutations [32].

In a large cohort of treated and untreated women with idiopathic CPP, Lazar et al. [14] demonstrated that the prevalence of obesity-related complications, such as metabolic dysfunctions and cancer comorbidities, was not increased, regardless of GnRHa treatment. In this cohort, the prevalence of metabolic dysfunctions at adulthood was not significantly different between patients with CPP due to *MKRN3* mutations and those with idiopathic CPP. These data can indicate that *MKRN3* has no direct role in metabolic regulation.

As already described, for women with idiopathic CPP and were treated, the gonadal function is restored at the predicted time after cessation of GnRHa treatment, with subsequent menarche and regular ovulatory menstrual

cycles [11, 15]. In our study, female patients with CPP due to *MKRN3* mutations and treated with GnRHa also had normal recovery of the gonadotropic axis after discontinuation of GnRHa treatment. Furthermore, spontaneous menarche occurred at the same CA in patients with CPP due to *MKRN3* mutations and idiopathic form. The prevalence of PCOS was equally low in both groups.

In conclusion, we reported the initial presentation and the longest follow-up of patients with CPP due to *MKRN3* mutations, treated with GnRHa, including anthropometric, hormonal, metabolic, and reproductive profiles. All patients reached normal FH, demonstrating the efficacy of GnRHa in preserving genetic adult height potential, regardless of the etiology of CPP. The prevalence of metabolic and reproductive disorders was similar in patients with CPP due to *MKRN3* mutations and idiopathic CPP, indicating that *MKRN3* mutations are not associated with a distinct short- and long-term follow-up compared with idiopathic CPP.

Acknowledgment

We appreciate the cooperation of the national (Ribeirao Preto Medical School, University of Sao Paulo, Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, private office Governador Valadares-MG, Universidade do Estado do Rio de Janeiro-RJ) and international Services (Division of Endocrinology, Diabetes, and Metabolism, Nemours Children's Clinic, Jacksonville, FL, USA; Department of Pediatrics, University Hospital Gasthuisberg, University of Leuven, Leuven, Belgium; Hospital de Niños R. Gutiérrez, Buenos Aires, Argentina; Department of Pediatric Endocrinology, University of Health Sciences, Umraniye Training and Research Hospital, Adem Yavuz Caddesi, Elmalikent Mah. Yekta Sok, Istanbul, Turkey; Pediatric Endocrine and Diabetes Unit the Chaim Sheba Medical Center, Israel).

Statement of Ethics

The protocol was approved by all the local Ethics Committee. Written informed consent was obtained from all participants and/or their guardians.

Disclosure Statement

The authors have no conflicts of interest to disclose.

References

- 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 Oct;24(5):668–93.
- Carel JC, Léger J. Clinical practice. Precocious puberty. *N Engl J Med*. 2008 May;358(22):2366–77.
- Latronico AC, Brito VN, Carel JC, Paulo DS, Robert H. Causes, diagnosis, and treatment of central precocious puberty. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2016 Mar;4(3):265–74.
- 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 Jun;368(26):2467–75.
- Bulcao Macedo D, Nahime Brito V, Latronico AC. New causes of central precocious puberty: the role of genetic factors. *Neuroendocrinology*. 2014;100(1):1–8.
- Simon D, Ba I, Mekhail N, Ecosse E, Paulsen A, Zenaty D, et al. Mutations in the maternally imprinted gene MKRN3 are common in familial central precocious puberty. *Eur J Endocrinol*. 2016 Jan;174(1):1–8.
- Bessa DS, Macedo DB, Brito VN, França MM, Montenegro LR, Cunha-Silva M, et al. High Frequency of MKRN3 Mutations in Male Central Precocious Puberty Previously Classified as Idiopathic. *Neuroendocrinology*. 2017;105(1):17–25.
- Macedo DB, França MM, Montenegro LR, Cunha-Silva M, Best DS, Abreu AP, et al. Central Precocious Puberty Caused by a Heterozygous Deletion in the MKRN3 Promoter Region. *Neuroendocrinology*. 2018;107(2):127–32.
- Mansfield MJ, Beardsworth DE, Loughlin JS, Crawford JD, Bode HH, Rivier J, et al. Long-term treatment of central precocious puberty with a long-acting analogue of luteinizing hormone-releasing hormone. Effects on somatic growth and skeletal maturation. *N Engl J Med*. 1983 Nov;309(21):1286–90.
- Carel JC, Eugster EA, Rogol A, Ghizzoni L, Palmert MR, Antoniazzi F, et al.; ESPE-LWPES GnRH Analogs Consensus Conference Group. Consensus statement on the use of gonadotropin-releasing hormone analogs in children. *Pediatrics*. 2009 Apr;123(4):e752–62.
- 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 Jan;93(1):190–5.
- Brito VN, Latronico AC, Cukier P, Teles MG, Silveira LF, Arnhold IJ, et al. Factors determining normal adult height in girls with gonadotropin-dependent precocious puberty treated with depot gonadotropin-releasing hormone analogs. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Jul;93(7):2662–9.
- Klein KO, Barnes KM, Jones JV, Feuille PP, Cutler GB Jr. Increased final height in precocious puberty after long-term treatment with LHRH agonists: the National Institutes of Health experience. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Oct;86(10):4711–6.
- 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 Apr;100(4):1445–51.
- 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 Apr;80(4):570–6.
- Chiocia E, Dati E, Baroncelli GI, Mora S, Parrini D, Erba P, et al. Body mass index and body composition in adolescents treated with gonadotropin-releasing hormone analogue triptorelin depot for central precocious puberty: data at near final height. *Neuroendocrinology*. 2009;89(4):441–7.
- 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 Mar;174(3):R79–87.
- Lee PA. Laboratory monitoring of children with precocious puberty. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 1994 Apr;148(4):369–76.
- Brito VN, Batista MC, Borges MF, Latronico AC, Kohek MB, Thirone AC, et al. Diagnostic value of fluorometric assays in the evaluation of precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999 Oct;84(10):3539–44.
- Greulich W, Pyle S. Radiographic Atlas of Skeletal Development of the Hand and Wrist. Stanford (CA): Stanford University Press; 1959.
- Debeneix C, Bourgeois M, Trivin C, Sainte-Rose C, Brauner R. Hypothalamic hamartoma: comparison of clinical presentation and magnetic resonance images. *Horm Res*. 2001;56(1-2):12–8.
- Macedo DB, Cukier P, Mendonca BB, Latronico AC, Brito VN. Avanços na etiologia, no diagnóstico e no tratamento da puberdade precoce central. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2014 Mar;58(2):108–17.
- Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child*. 1969 Jun;44(235):291–303.
- Marshall WA, Tanner JM. Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child*. 1970 Feb;45(239):13–23.
- Styne DM, Arslanian SA, Connor EL, Farooqi IS, Murad MH, Silverstein JH, et al. Pediatric Obesity—Assessment, Treatment, and Prevention: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017 Mar;102(3):709–57.
- Borecki IB, Higgins M, Schreiner PJ, Arnett DK, Mayer-Davis E, Hunt SC, et al. Evidence for multiple determinants of the body mass index: the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Obes Res*. 1998 Mar;6(2):107–14.
- Qu HQ, Li Q, Rentfro AR, Fisher-Hoch SP, McCormick JB. The definition of insulin resistance using HOMA-IR for Americans of Mexican descent using machine learning. *PLoS One*. 2011;6(6):e21041.
- Legro RS, Arslanian SA, Ehrmann DA, Hoeger KM, Murad MH, Pasquali R, et al.; Endocrine Society. Diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013 Dec;98(12):4565–92.
- Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2004 Jan;81(1):19–25.
- Bangalore Krishna K, Fuqua JS, Rogol AD, Klein KO, Popovic J, Houk CP, et al. Use of Gonadotropin-Releasing Hormone Analogs in Children: Update by an International Consortium. *Horm Res Paediatr*. 2019;91(6):357–72.
- Macedo DB, Abreu AP, Reis AC, Montenegro LR, Dauber A, Beneduzzi D, et al. Central precocious puberty that appears to be sporadic caused by paternally inherited mutations in the imprinted gene makorin ring finger 3. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014 Jun;99(6):E1097–103.
- Valadares LP, Meireles CG, De Toledo IP, Santarem de Oliveira R, Gonçalves de Castro LC, Abreu AP, et al. MKRN3 Mutations in Central Precocious Puberty: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Endocr Soc*. 2019 Mar;3(5):979–95.
- 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 Sep;92(9):3483–9.
- Heger S, Partsch CJ, Sippell WG. Long-term outcome after depot gonadotropin-releasing hormone agonist treatment of central precocious puberty: final height, body proportions, body composition, bone mineral density, and reproductive function. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999 Dec;84(12):4583–90.
- 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 Apr;150(4):533–7.