

RACCOMANDAZIONI E LINEE GUIDA

Gonadotropine ipofisarie e infertilità
Pituitary gonadotropins and infertilityOttavia PORZIO ^{1,2} *¹UOC Laboratorio Analisi Cliniche, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italia; ²Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma, Italia*Autore di contatto: Ottavia Porzio, UOC Laboratorio Analisi Cliniche, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italia.
E-mail: ottavia.porzio@opbg.net

RIASSUNTO

Le gonadotropine regolano la funzione gonadica favorendo la produzione di steroidi sessuali e la gametogenesi. La loro secrezione è sotto il controllo del fattore di rilascio delle gonadotropine (GnRH) fin dalla 20^a settimana di gestazione. Al momento della pubertà, l'attivazione della pulsatilità del GnRH determina l'incremento delle gonadotropine, con conseguente marcato aumento del rapporto ormone luteinizzante/ormone follicolo stimolante (*luteinizing hormone/follicle-stimulating hormone*, LH/FSH). Nella donna durante l'età fertile, la secrezione di FSH e LH è ciclica e regola il ciclo mestruale; nell'uomo, l'LH stimola la produzione di testosterone dalle cellule del Leydig del testicolo mentre l'FSH stimola la componente tubulare delle cellule del Sertoli, contribuendo alla regolazione della spermatogenesi. Il dosaggio delle gonadotropine trova la sua principale applicazione clinica nello studio dell'ipogonadismo ipogonadotropo o ipergonadotropo, nella pubertà precoce, nella sindrome dell'ovaio policistico e nella valutazione della riserva ovarica. In ambito clinico sono impiegati solo metodi immunometrici a *sandwich* di tipo automatico, che risultano essere rapidi, precisi, specifici e di elevata sensibilità. La loro calibrazione è complessa, perché non è possibile produrre dei calibratori che rispecchino l'eterogeneità delle molecole di LH e FSH presenti in circolo: gli standard internazionali più utilizzati per la calibrazione dei kit commerciali sono il 2° IRP 78/549 per l'FSH e il 2° IS 80/552 per LH. Nonostante la cross-reattività verso la β subunità dell'LH e dell'FSH sia ad oggi <1%, è importante tenere presente che metodi analitici diversi possono dare valori diversi di oltre il 50%, anche quando calibrati con lo stesso materiale di riferimento.

(Per citare questo articolo: Porzio O. Gonadotropine ipofisarie e infertilità. Riv Ital Med Lab 2022;18:113-8. DOI: 10.23736/S1825-859X.22.00147-5)

ABSTRACT

Gonadotropins regulate gonadal function by promoting the production of sex steroids and gametogenesis. Their secretion is under the control of the gonadotropin releasing factor (GnRH) from the 20th week of gestation. At the time of puberty, the activation of the pulsatility of GnRH determines the increment of gonadotropins, resulting in a marked increase in the luteinizing hormone/follicle-stimulating hormone (LH/FSH) ratio. In women during the fertile age, the secretion of FSH and LH is cyclical and regulates the menstrual cycle; in males, LH stimulates the production of testosterone from the Leydig cells of the testis while FSH stimulates the tubular component of the Sertoli cells, contributing to the regulation of spermatogenesis. The assay of gonadotropins finds its main clinical application in the study of hypogonadotropic or hypergonadotropic hypogonadism, in precocious puberty, in polycystic ovary syndrome and in the evaluation of ovarian reserve. In the clinical setting, only automatic "sandwich" immunometric methods are used, which are quick, accurate, specific and highly sensitive. Their calibration is complex, because it is not possible to produce calibrators that reflect the heterogeneity of the LH and FSH circulating molecules: the most widely used international standards for the calibration are the 2° IRP 78/549 for FSH and 2° IS 80/552 for LH. Although the cross-reactivity towards the subunit of LH and FSH is currently <1%, it is important to remind that different analytical methods can give different values of more than 50%, even when calibrated with the same reference material.

Key words: Luteinizing hormone; Follicle-stimulating hormone; Hypogonadism; Puberty.

Introduzione

Il gruppo di Studio in Endocrinologia e Malattie del Metabolismo della Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio (GdS-EMM SIPMeL) ha inteso portare all'attenzione dei colleghi medici, biologi, chimici e tecnici di laboratorio, le principali caratteristiche dei test ormonali per lo studio dell'infertilità con l'obiettivo di una migliore conoscenza dei problemi legati a questa affezione.

In questo contributo vengono descritti la struttura molecolare, la funzione e il significato biologico, gli aspetti analitici e clinici delle gonadotropine ipofisarie e vengono fornite raccomandazioni sul corretto utilizzo di questi marcatori ormonali.

Struttura e caratteristiche molecolari

Le gonadotropine LH (ormone luteinizzante) e FSH (ormone follicolo stimolante) sono molecole glicoproteiche di circa 30.000 Da, costituite rispettivamente da 121 e 117 aminoacidi. Sono composte da due subunità, alfa (α) e beta (β): mentre la subunità α è identica a quella del TSH e dell'HCG, la β conferisce specificità e bioattività sulle gonadi. Sono glicoproteine che circolano in un elevato numero di isoforme che differiscono per il contenuto di monosaccaridi anionici terminali, quali l'acido sialico e la N-acetilgalattosamina sulfonata.^{1,2} Il grado e le caratteristiche di glicosilazione di queste molecole conferiscono carica, bioattività ed emivita differenti per ciascun tipo di glicoproteina. In particolare, la quantità di carboidrati presenti sembra giocare un ruolo funzionale sia nel legame delle gonadotropine ai loro recettori che nella trasduzione intracellulare del segnale. I residui terminali di acido sialico sono invece coinvolti nella regolazione dell'emivita circolante delle diverse isoforme delle gonadotropine.

Funzione e significato biologico

Le gonadotropine regolano la funzione gonadica favorendo la produzione di steroidi sessuali e la gametogenesi. La loro secrezione è sotto il controllo del fattore di rilascio delle gonadotropine (GnRH), prodotto dai neuroni localizzati nell'area preottica mediale e nel nucleo arcuato dell'ipotalamo basale: nell'uomo, il numero dei neuroni GnRH secernenti è stato stimato in piccolo numero, tra 1000 e 1500.³ Il GnRH è un decapeptide, controllato negativamente dagli steroidi gonadici e stimolato da neurotrasmettitori quali il GABA, alcuni aminoacidi, peptidi oppioidi endogeni, monoamine del sistema noradrenergico, dopaminergico e serotoninergico.

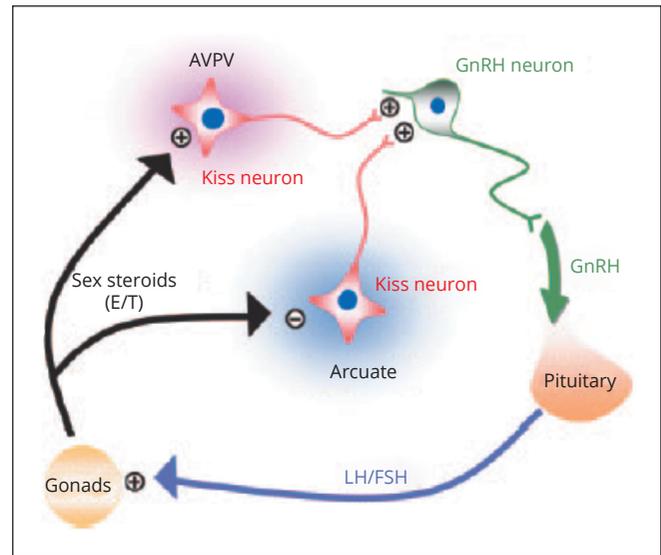


Figura 1.—Meccanismo di secrezione dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi (from Dungan *et al.*).⁴

Recentemente è stato identificato un ormone denominato kisspeptina, rilasciato dai neuroni kisspeptin del nucleo arcuato e periventricolare, che regola l'attività del generatore di impulsi ipotalamico e partecipa all'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi al momento della maturazione puberale (Figura 1).⁴

Il GnRH viene rilasciato nei capillari fenestrati della circolazione portale dell'eminenza mediana in modo pulsatile, con frequenza ogni 30-120 minuti, e quindi trasportato all'adenipofisi, dove a sua volta regola la biosintesi e la liberazione di LH e FSH. L'importanza della pulsatilità della secrezione del GnRH e quindi delle gonadotropine LH e FSH è stata dimostrata già negli anni '70 nelle scimmie Rhesus, nelle quali la somministrazione continua dell'ormone determinava una risposta transitoria della secrezione delle gonadotropine, che veniva ripristinata in presenza della pulsatilità.⁵

Lo sviluppo secretorio dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi è strettamente regolato dalle attività del centro regolatore ipotalamico fin dalla 20^a settimana di gestazione, quando si sviluppa il sistema portale ipotalamico-ipofisario e quindi, sotto il controllo del GnRH, inizia nel feto la secrezione delle gonadotropine. Queste aumentano progressivamente fino alla 24^a settimana, per poi diminuire costantemente fino alla nascita per effetto del feedback negativo esercitato dagli estrogeni e progesterone placentari. Dopo la nascita, i livelli plasmatici degli steroidi sessuali materni e placentari diminuiscono rapidamente e quindi l'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi sfugge al loro effetto sop-

pressivo, il generatore di impulsi si riattiva e inizia la caratteristica increzione ipotalamica pulsatile di GnRH e gonadotropine. L'FSH aumenta in misura maggiore nei neonati di sesso femminile, stimolando lo sviluppo follicolare ovarico, mentre l'ormone LH aumenta maggiormente nel sesso maschile, agendo sul testicolo e stimolando la secrezione di testosterone. Nei mesi successivi, i meccanismi di feedback negativi diventano completamente funzionanti e i livelli di gonadotropine scendono ai livelli prepuberi, intorno ai 9-12 mesi di età nei bambini e 24-36 mesi nelle bambine. Al momento della pubertà, la riattivazione della secrezione pulsatile di GnRH determina l'increzione delle gonadotropine, dapprima nelle ore notturne e poi nelle ore diurne, con aumento della concentrazione degli ormoni gonadici e maggiore ampiezza della secrezione pulsatile dell'LH rispetto all'FSH, con conseguente marcato aumento del rapporto LH/FSH.

Nella donna durante l'età fertile, la secrezione di FSH e LH è ciclica e regola il ciclo mestruale;⁶ nella fase follicolare, l'incremento dei livelli di estrogeni determina un *feed-back* positivo sulle gonadotropine, il cui picco precede l'ovulazione, cui segue la formazione del corpo luteo (Figura 2).⁶ L'LH stimola quindi la produzione di estrogeni e progesterone ovarici, mentre l'FSH controlla principalmente la maturazione del follicolo. Nell'uomo, l'LH stimola la produzione di testosterone dalle cellule del Leydig del testicolo mentre l'FSH stimola la componente tubulare delle cellule del Sertoli, contribuendo alla regolazione della spermatogenesi.

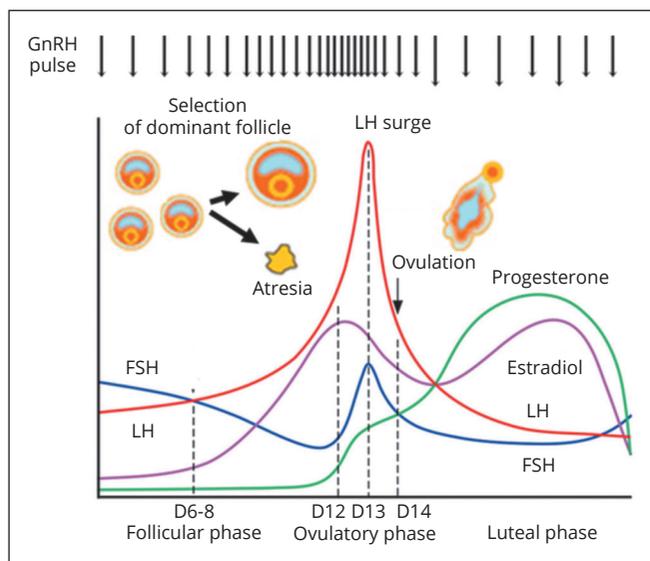


Figura 2.—Andamento degli ormoni sessuali durante il ciclo mestruale (from Orisaka *et al.*).⁶

Fisiologicamente, nelle prime fasi della menopausa, in assenza del retro controllo steroideo sull'ipotalamo e sull'ipofisi, si osserva un aumento dei livelli di FSH nella fase follicolare iniziale, in presenza di concentrazioni di estradiolo ancora nella norma e cicli mestruali regolari: successivamente aumentano anche i livelli di LH, l'estradiolo si riduce e i cicli divengono progressivamente irregolari fino a scomparire.

Utilizzo clinico

Ipogonadismo ipogonadotropo o ipergonadotropo

Il dosaggio delle gonadotropine è essenziale per differenziare le varie forme di ipogonadismo, distinte sulla base di elevati livelli di LH e FSH (ipogonadismo ipergonadotropo, insufficienza ovarica/testicolare primitiva) o ridotti livelli di LH, FSH ed estradiolo/testosterone (ipogonadismo ipogonadotropo, alterazione ipotalamo-ipofisaria).

Pubertà precoce

La pubertà precoce è la comparsa dei segni di sviluppo puberale prima dell'età di 8 anni per le femmine, 9 anni nei maschi. La pubertà precoce vera si verifica in presenza di una attivazione prematura della secrezione ipotalamica di GnRH, con l'ampiezza e la frequenza di pulsatilità propria della pubertà fisiologica e conseguente maturazione completa delle gonadi.⁷ Le indagini ormonali sono rivolte alla dimostrazione dell'aumentata secrezione gonadotropinica ipofisaria; in particolare è diagnostico l'aumento della concentrazione dell'LH. Con l'impiego di *assay* ultrasensibili quali l'immunofluorimetria (IFMA) e l'immunochemiluminescenza (ICMA), i livelli basali di LH ed FSH risultano spesso aumentati nella pubertà precoce vera; tuttavia, nelle forme iniziali, i valori possono essere sovrapponibili a quelli dei soggetti prepuberi. È quindi necessario effettuare il test di stimolazione con GnRH per il dosaggio a tempi seriali di LH e FSH. Non è ancora univoco il cutoff di risposta dell'LH diagnostico per pubertà, generalmente valori >5 UI/L sono considerati puberi, ma sono stati suggeriti anche altri cutoff, varianti da 4 a 8 IU/L.^{8,9} L'elevazione dell'FSH non è di per sé diagnostica, mentre lo è il rapporto LH/FSH>1. In alternativa, il test di stimolazione può essere effettuato utilizzando un GnRH-agonista, triptorelina o leuprorelina, con dosaggio di LH e FSH rispettivamente dopo 30' e 60' dalla somministrazione. Il dosaggio dell'estradiolo, nella femmina, è scarsamente utile nella diagnosi di pubertà precoce vera, sia per l'ampia fluttuazione episodica che caratterizza la

This document is protected by international copyright laws. No additional reproduction is authorized. It is permitted for personal use to download and save only one file and print only one copy of this Article. It is not permitted to make additional copies (either sporadically or systematically, either printed or electronic) of the Article for any purpose. It is not permitted to distribute the electronic copy of the article through online internet and/or intranet file sharing systems, electronic mailing or any other means which may allow access to the Article. The use of all or any part of the Article for any Commercial Use is not permitted. The production of derivative works from the Article is not permitted. It is not permitted to remove, cover, overlay, obscure, block, or change any copyright notices or terms of use which the Publisher may post on the Article. It is not permitted to frame or use framing techniques to enclose any trademark, logo, or other proprietary information of the Publisher.

secrezione di tale ormone, sia per la scarsa disponibilità di metodi di dosaggio ultrasensibili quali la spettrometria di massa. Il testosterone nel maschio è sempre elevato, nonostante bassi valori (<0,1 ng/ml) siano riscontrati nelle forme iniziali di pubertà precoce.

Sindrome dell'ovaio policistico

La sindrome dell'ovaio policistico (*polycystic ovary syndrome*, PCOS) è una sindrome clinica caratterizzata da lieve obesità, cicli irregolari o amenorrea con disfunzione ovulatoria e segni di iperandrogenismo (acne, irsutismo, ecc.).¹⁰ Tipicamente, le ovaie contengono un gran numero di cisti follicolari, di diametro compreso tra i 2 e i 6 mm, e talvolta le stesse ovaie possono essere di volume aumentato. Un livello elevato di LH può essere osservato nel 60% delle donne con PCOS, così come nel 95% si osserva un elevato rapporto LH/FSH (>2,5), dovuto ad aumentata ampiezza e frequenza della secrezione pulsatile della gonadotropina.¹¹ Questi parametri non sono necessari per la diagnosi di PCOS, ma sono un elemento importante; nella loro determinazione occorre considerare il rapporto con il periodo ovulatorio e l'indice di massa corporea della paziente (LH risulta maggiormente elevato nelle donne magre).

Valutazione della riserva ovarica

Sebbene oggi l'ormone antimulleriano (AMH) sia considerato il parametro più accurato per la valutazione della riserva ovarica, anche il dosaggio dell'FSH al terzo giorno del ciclo mestruale viene ampiamente utilizzato e i valori su siero <15 UI/ml sono considerati valori soglia per ottenere una possibile gravidanza.¹² Il riscontro di almeno due valori di FSH >30 UI/ml sono invece indicativi per una probabile menopausa.

Caratteristiche preanalitiche

Matrice biologica

Le gonadotropine LH ed FSH vengono determinate generalmente su siero e/o plasma. La determinazione di gonadotropine nelle urine con metodi immunometrici non ha avuto grande diffusione, in quanto l'escrezione urinaria è fortemente influenzata dalla funzione renale e il metodo di misura risente inoltre di variazioni di pH, concentrazione di sali ed interferenti.¹³ Notevole diffusione hanno invece avuto negli ultimi venti anni dispositivi immunometrici con rivelazione colorimetrica ad uso domestico, che consentono la rivelazione del picco dell'LH, che nel ciclo mestruale si verifica 24-36 ore prima dell'ovulazione e sono

in grado di confermare l'ovulazione in una percentuale compresa tra il 50 e il 100% dei casi.¹⁴

Modalità di prelievo

I livelli delle gonadotropine non presentano variazioni circadiane o posturali e non sono necessarie particolari preparazioni del paziente.

Variabilità biologica preanalitica

Bisogna considerare che, a causa della natura pulsatile della loro secrezione, una singola determinazione random potrebbe non riflettere le dinamiche di iniezione di questi ormoni. Le concentrazioni inoltre variano durante lo sviluppo puberale in entrambi i sessi e nel ciclo mestruale femminile.

Trasporto e conservazione del campione

Il campione di siero o plasma presenta una elevata stabilità a temperatura ambiente (5 giorni a 20-25 °C) ed un tempo di conservazione fino a 14 giorni a 2-8 °C, 6 mesi a -20 °C. Devono essere evitati cicli ripetuti di congelamento/scongelo.

Caratteristiche analitiche

Evoluzione dei metodi di misura

I metodi radioimmunologici con singolo anticorpo policlonale hanno rappresentato il metodo elettivo per il dosaggio delle gonadotropine nei laboratori clinici per almeno due decenni. Alla fine degli anni 80, sono stati introdotti i dosaggi immunoradiometrici con doppio anticorpo monoclonale *sandwich*, con livelli di sensibilità compresi tra 0,1 e 0,5 IU/L.^{15, 16} Successivamente, il tracciante radiomarcato è stato abbandonato e sono stati sviluppati metodi ultrasensibili con due anticorpi monoclonali, che riconoscono specificamente la subunità β di LH o FSH e sfruttano il principio della immunofluorescenza o della immunochemiluminescenza, permettendo un aumento di 5-9 volte della sensibilità analitica (circa 0,01 IU/L).¹⁷ I metodi di terza generazione sono diventati ampiamente disponibili e hanno permesso di evidenziare i bassi livelli della pulsatilità delle gonadotropine nel bambino prepubere e la valutazione della pubertà precoce o ritardata.¹⁸

Metodiche in uso

In ambito clinico sono impiegati solo metodi immunometrici di tipo automatico, che risultano essere rapidi, precisi, specifici e di elevata sensibilità (Tabella I). I metodi implementati sulla strumentazione automatica sono di norma

TABELLA I.—Disponibilità di mercato dei metodi per la determinazione delle gonadotropine ipofisarie (prodotti con marchio CE).

| Produttore | Prodotto | Tecnica | Strumentazione |
|----------------------------|-------------------------|----------------------------------|--|
| Roche Diagnostics | Elecsys LH/ Elecsys FSH | ElettroChemiluminescenza (ECLIA) | Piattaforme analitiche Cobas |
| Siemens Healthineers | LH/FSH | Chemiluminescenza (CLIA) | Atellica, ADVIA Centaur, IMMULITE, Dimension Vista |
| Abbott | LH/FSH | Chemiluminescenza (Chemiflex) | Piattaforme analitiche Architect |
| Beckman Coulter | hLH, hFSH | Chemiluminescenza (CLIA) | Access, Unicel Dxl |
| Ortho Clinical Diagnostics | LH/FSH | Chemiluminescenza (CLIA) | Piattaforme analitiche Vitros |
| Diasorin | Liaison LH, Liaison FSH | Chemiluminescenza (CLIA) | LIAISON Analyzer |
| Snibe Diagnostic | Maglumi LH/Maglumi FSH | Chemiluminescenza (CLIA) | Piattaforma analitica Maglumi |

TABELLA II.—Standard internazionali e materiali di riferimento per LH e FSH.

| Codice | Unità utilizzate | Commenti | Referenze |
|---|---------------------------------|--|---|
| FSH IRP 78/549 Interim RP 94/632 | Unità Internazionali arbitrarie | Estratto ipofisario parzialmente purificato. IRP 78/549 non è più disponibile. | Bangham <i>et al.</i> (1973) ¹⁹ |
| IS 83/575 | Unità Internazionali arbitrarie | Estratto ipofisario altamente purificato. Ad uso esclusivo per immunodosaggi. | Storring <i>et al.</i> (1989) ²⁰ |
| IS 92/510 | Unità Internazionali arbitrarie | Preparazione ricombinante. Ad uso esclusivo per immunodosaggi. | WHO (1997) ²¹ |
| IS 92/642 | Unità Internazionali arbitrarie | Preparazione ricombinante. Ad uso esclusivo per il saggio biologico | WHO (1995) ²² |
| LH LH IS 80/552 | Unità Internazionali arbitrarie | Estratto ipofisario altamente purificato | Storring <i>et al.</i> (1993) ²³ |
| IS 96/602 | Unità Internazionali arbitrarie | Preparazione ricombinante. Ad uso esclusivo per il saggio biologico | WHO (2003) ²⁴ |

I codici in grassetto sono quelli correntemente utilizzati per la calibrazione dei principali *immunoassay* in commercio (modificata da Sturgeon *et al.*).²⁵

quelli a *sandwich*, in cui un anticorpo è immobilizzato su provette, biglie di plastica, fibre di vetro od altro supporto, mentre il secondo anticorpo è legato ad un tracciante che può essere di natura diversa (enzimatico, fluorescente, chemiluminescente). La calibrazione delle gonadotropine è complessa, perché non è praticamente possibile produrre dei calibratori che rispecchino l'eterogeneità delle molecole di LH e FSH presenti in circolo nel singolo soggetto. I primi preparati sono stati ricavati dalle urine di donne in menopausa, mentre successivamente si è passati a materiale derivato dall'ipofisi con un grado di purificazione sempre maggiore. Successivamente sono stati prodotti calibratori con tecnica ricombinante, più similari possibile al mix di isoforme circolanti presenti e gli *standard* internazionali più utilizzati per la calibrazione delle curve di taratura dei kit commerciali sono il 2° IRP 78/549 per l'FSH e il 2° IS 80/552 per LH (Tabella II).¹⁹⁻²⁵

È importante tenere presente che metodi diversi possono dare, anche oggi, valori diversi di oltre il 50% anche quando calibrati con lo stesso materiale di riferimento. Complicazione ulteriore alla determinazione delle gonadotropine è data dalla variazione della composizione delle isoforme, non solo nel corso della vita, ma anche nel corso del ciclo mestruale, che influenza la loro riconoscibilità da parte dei diversi anticorpi.

Interferenze nel dosaggio

Con l'introduzione di metodiche immunometriche ultrasensibili, che utilizzano due differenti anticorpi monoclonali che riconoscono la β subunità dell'LH e dell'FSH, può considerarsi superato il problema della reattività crociata tra loro e con altre glicoproteine strutturalmente simili, come TSH ed hCG: la cross-reattività è passata infatti da valori tra 10 e il 25% a valori <1%.²⁶

Caratteristiche postanalitiche

Refertazione

Unità di misura: mIU/mL, IU/L.

Intervalli di riferimento

I valori di riferimento dovrebbero essere differenziati per sesso e per età, e nella donna specificati in funzione dei periodi (pre-puberale, puberale, periodo fertile, peri-menopausa, post-menopausa) nonché, nell'età fertile, in funzione del ciclo ovarico (fase follicolare, fase ovulatoria, fase luteale).

Raccomandazioni del GdS-EMM

Raccomandazione 1. È importante tenere presente che metodi analitici diversi possono dare valori diversi di oltre

il 50% anche quando calibrati con lo stesso materiale di riferimento.

Raccomandazione 2. Sebbene il dosaggio dell'FSH al terzo giorno del ciclo mestruale sia ampiamente utilizzato quale indice di riserva ovarica, non è appropriato dare valore clinico a concentrazioni borderline (10-15 UI/L). Tuttavia, ripetute misurazioni >15 UI/L sono indicative, indipendentemente dall'età, di importante riduzione della riserva ovarica, condizione imminente a una transizione menopausale.

Raccomandazione 3. Nel sospetto di pubertà precoce, il rapporto LH/FSH >1 dopo stimolazione con GnRH è diagnostico per la patologia.

Bibliografia

- Mullen MP, Cooke DJ, Crow MA. Structural and functional roles of FSH and LH as glycoproteins regulating reproduction in mammalian species. *Intech* 2013.
- Wide L, Eriksson K. Molecular size and charge as dimensions to identify and characterize circulating glycoforms of human FSH, LH and TSH. *Ups J Med Sci* 2017;122:217-23.
- Casoni F, Malone SA, Belle M, Luzzati F, Collier F, Allet C, *et al.* Development of the neurons controlling fertility in humans: new insights from 3D imaging and transparent fetal brains. *Development* 2016;143:3969-81.
- Dungan HM, Clifton DK, Steiner RA. Minireview: kisspeptin neurons as central processors in the regulation of gonadotropin-releasing hormone secretion. *Endocrinology* 2006;147:1154-8.
- Belchetz PE, Plant TM, Nakai Y, Keogh EJ, Knobil E. Hypophysial responses to continuous and intermittent delivery of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone. *Science* 1978;202:631-3.
- Orisaka M, Miyazaki Y, Shirafuji A, Tamamura C, Tsuyoshi H, Tsang BK, *et al.* The role of pituitary gonadotropins and intraovarian regulators in follicle development: A mini-review. *Reprod Med Biol* 2021;20:169-75.
- Carel JC, Léger J. Clinical practice. Precocious puberty. *N Engl J Med* 2008;358:2366-77.
- Cheuche AV, da Silveira LG, de Paula LC, Lucena IR, Silveiro SP. Diagnosis and management of precocious sexual maturation: an updated review. *Eur J Pediatr* 2021;180:3073-87.
- Resende EA, Lara BH, Reis JD, Ferreira BP, Pereira GA, Borges MF. Assessment of basal and gonadotropin-releasing hormone-stimulated gonadotropins by immunochemiluminometric and immunofluorometric assays in normal children. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:1424-9.
- Goodarzi MO, Dumesic DA, Chazenbalk G, Azziz R. Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis. *Nat Rev Endocrinol* 2011;7:219-31.
- Sheehan MT. Polycystic ovarian syndrome: diagnosis and management. *Clin Med Res* 2004;2:13-27.
- Wang X, Jin L, Mao YD, Shi JZ, Huang R, Jiang YN, *et al.* Evaluation of ovarian reserve tests and age in the prediction of poor ovarian response to controlled ovarian stimulation-A real-world data analysis of 89,002 patients. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2021;12:702061.
- Demir A, Alftan H, Stenman UH, Voutilainen R. A clinically useful method for detecting gonadotropins in children: assessment of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone from urine as an alternative to serum by ultrasensitive time-resolved immunofluorometric assays. *Pediatr Res* 1994;36:221-6.
- Ghazzeeri GS, Vongprachanh P, Kutteh WH. The predictive value of five different urinary LH kits in detecting the LH surge in regularly menstruating women. *Int J Fertil Womens Med* 2000;45:321-6.
- Garibaldi LR, Picco P, Magier S, Chevli R, Aceto T Jr. Serum luteinizing hormone concentrations, as measured by a sensitive immunoradiometric assay, in children with normal, precocious or delayed pubertal development. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;72:888-98.
- Wu FC, Butler GE, Kelnar CJ, Sellar RE. Patterns of pulsatile luteinizing hormone secretion before and during the onset of puberty in boys: a study using an immunoradiometric assay. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:629-37.
- Neely EK, Hintz RL, Wilson DM, Lee PA, Gautier T, Argente J, *et al.* Normal ranges for immunochemiluminometric gonadotropin assays. *J Pediatr* 1995;127:40-6.
- Neely EK, Wilson DM, Lee PA, Stene M, Hintz RL. Spontaneous serum gonadotropin concentrations in the evaluation of precocious puberty. *J Pediatr* 1995;127:47-52.
- Bangham DR, Berryman I, Burger H, Cotes PM, Furnival BE, Hunter WM, *et al.* An international collaborative study of 69-104, a reference preparation of human pituitary FSH and LH. *J Clin Endocrinol Metab* 1973;36:647-60.
- Storring PL, Gaines Das RE. The International Standard for Pituitary FSH: collaborative study of the Standard and of four other purified human FSH preparations of differing molecular composition by bioassays, receptor assays and different immunoassay systems. *J Endocrinol* 1989;123:275-93.
- WHO Expert Committee on Biological Standardization. Proposed WHO International Standard for follicle stimulating hormone, for immunoassay, 92/510. WHO Technical Report Series. 1997.
- WHO Expert Committee on Biological Standardization. Proposed WHO International Standard for follicle stimulating hormone, for bioassay, 92/642. WHO Technical Report Series. 1995.
- Storring PL, Gaines Das RE. The Second International Standard for Human Pituitary LH: its collaborative study by bioassays and immunoassays. *J Endocrinol* 1993;138:345-9.
- WHO Expert Committee on Biological Standardization. Proposed WHO International Standard for luteinizing hormone, for bioassay, 96/602. WHO Technical Report Series. 2003.
- Sturgeon CM, Ellis AR. Standardization of FSH, LH and hCG—current position and future prospects. *Mol Cell Endocrinol* 2007;260:262:301-9.
- Pandian MR, Odell WD, Carlton E, Fisher DA. Development of third-generation immunochemiluminometric assays of follitropin and lutropin and clinical application in determining pediatric reference ranges. *Clin Chem* 1993;39:1815-9.

Conflitti di interesse.—L'autore dichiara di non aver alcun conflitto di interesse.

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

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

Publicato online: 8 luglio 2022. - Accettato: 6 luglio 2022. - Ricevuto: 22 giugno 2022.