



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:
ENDOCRINOLOGIA

**Acurácia do Doppler de Artérias Uterinas para o Diagnóstico do Início da
Puberdade em Meninas**

Dissertação de Mestrado

Amanda Veiga Cheuiche

Porto Alegre, dezembro de 2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:
ENDOCRINOLOGIA

**Acurácia do Doppler de Artérias Uterinas para o Diagnóstico do Início da
Puberdade em Meninas**

Dissertação de Mestrado

Amanda Veiga Cheuiche

Orientadora: Prof^a Dr^a Sandra Pinho Silveiro

Coorientadora: Prof^a Dr^a Leila Pedroso de Paula

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Endocrinologia.

Porto Alegre, dezembro de 2020

CIP - Catalogação na Publicação

Cheuiche, Amanda
Acurácia do Doppler de Artérias Uterinas para o
Diagnóstico do Início da Puberdade em Meninas / Amanda
Cheuiche. -- 2020.
52 f.
Orientadora: Sandra Pinho Silveiro.

Coorientadora: Leila Pedroso de Paula.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia,
Porto Alegre, BR-RS, 2020.

1. Endocrinologia pediátrica. 2. Puberdade precoce.
3. Ultrassonografia. I. Pinho Silveiro, Sandra,
orient. II. Pedroso de Paula, Leila, coorient. III.
Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, pelo apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Sandra Pinho Silveiro, por ser minha inspiração de médica, pesquisadora e endocrinologista. Agradeço por todos os ensinamentos, desde o princípio, quando entrei na iniciação científica no meu primeiro ano (“recém-nascida”) na Faculdade de Medicina. Sua competência, dedicação e amor pelo que faz, paciência e atenção admirável com todos, foram fundamentais para o meu crescimento nesses 11 anos em que tive o privilégio de ser sua aluna.

À minha coorientadora, Prof^a Dr^a Leila Pedroso de Paula, por ser a grande responsável pela minha entrada na linda área da endocrinologia pediátrica, além de ter me confiado este projeto. Seu entusiasmo e busca constante por conhecimento são uma inspiração para mim.

À minha família, que sempre proporcionou todas as ferramentas para o meu crescimento pessoal e profissional. Obrigada pelo apoio incondicional, amor e segurança durante toda a minha vida. Sem vocês, nada disso seria possível.

Às colaboradoras deste projeto, Dr^a Iara Siqueira Lucena, Dr^a Márcia Punães, Dr^a Fabíola Costenaro e Dr^a Cristiane Kopacek, pela disponibilidade sempre que precisei e contribuição com os dados. O auxílio de vocês tornou esse projeto viável.

À aluna de iniciação científica Letícia Guimarães da Silveira, pela dedicação, responsabilidade e grande auxílio na coleta de dados, análises e apresentações. Tua participação foi fundamental do início ao fim deste trabalho.

Ao grupo de pesquisa, em especial ao Gustavo Monteiro Escott, pela valiosa contribuição nas análises dos dados e apresentações.

O formato da dissertação segue o modelo recomendado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, sendo apresentada na forma de um artigo de introdução sobre o tema, seguido de um artigo original contendo os resultados finais.

SUMÁRIO

RESUMO DA DISSERTAÇÃO.....	8
LISTA DE ABREVIATURAS.....	10
LISTA DE TABELAS.....	11
LISTA DE FIGURAS.....	12
CAPÍTULO 1.....	14
Resumo.....	15
Abstract.....	16
Introdução.....	17
Etiologia da puberdade precoce em meninas.....	18
Diagnóstico.....	19
Avaliação hormonal.....	19
Avaliação por imagem.....	20
Conclusões.....	28
Referências.....	30
CAPÍTULO 2.....	34
Resumo.....	35
Abstract.....	36
Introdução.....	37
Pacientes e métodos.....	37
Análise estatística.....	39
Resultados.....	40
Discussão.....	47
Referências.....	50
Apêndice.....	52

RESUMO DA DISSERTAÇÃO

A ultrassonografia (US) pélvica é um método rápido, não invasivo e de baixo custo que atualmente é utilizado como adjuvante na investigação de precocidade sexual. O índice de pulsatilidade (IP) das artérias uterinas avaliado pelo método de Doppler reflete a impedância do fluxo sanguíneo no vaso distal ao ponto de amostragem e tem sido sugerido como um parâmetro para definir o desenvolvimento puberal. O objetivo do nosso trabalho foi avaliar a acurácia do IP das artérias uterinas para o diagnóstico de início puberal em meninas. Realizou-se um estudo transversal com meninas com desenvolvimento puberal normal. O diagnóstico de início da puberdade foi dado pela classificação de Tanner de desenvolvimento mamário maior ou igual a 2. As participantes foram divididas da seguinte forma: pré-puberdade (Tanner 1), puberdade inicial (Tanner 2 e 3) e puberdade tardia (Tanner 4 e 5). Os resultados do IP das artérias uterinas (definido como a diferença entre o pico do fluxo sistólico e o fluxo diastólico final dividido pela velocidade média do fluxo), das medidas uterinas, endometriais e ovarianas foram registrados. A análise estatística incluiu as medidas de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e negativo (VPN), razão de verossimilhança positiva e negativa, acurácia, correlação de Spearman e curvas ROC com Youden. Foram incluídas 169 meninas de 5 a 16 anos que realizaram 202 US pélvicas. Meninas pré-púberes tiveram média de IP significativamente maior do que meninas na puberdade inicial e na puberdade tardia, respectivamente $6,70 \pm 2,15$ vs. $4,14 \pm 1,55$ vs. $2,81 \pm 1,05$, $P < 0,001$ para todas as comparações. A análise da curva ROC demonstrou que o IP foi capaz de identificar o início da puberdade com área sob a curva de $0,838 \pm 0,04$ ($P < 0,001$), e o ponto de corte do IP de 5,05 apresentou sensibilidade de 77%, especificidade de 85%, VPP de 92% e acurácia de 79%. A combinação de IP abaixo de 5,05 e volume uterino acima de $3,75 \text{ cm}^3$ apresentou sensibilidade de 73%, especificidade de 95%, VPP de 97% e acurácia de 79% para detectar a puberdade inicial. Correlação negativa forte entre IP e volume uterino e correlações negativas moderadas com espessura endometrial, diâmetro longitudinal uterino e volume do ovário direito e esquerdo foram encontrados. Em conclusão, encontramos uma redução significativa do IP durante o desenvolvimento puberal, refletindo um aumento progressivo do fluxo

sanguíneo para o útero. Combinado com o volume uterino, o IP pode ser uma ferramenta não invasiva valiosa e altamente específica para confirmar o início da puberdade.

.

LISTA DE ABREVIATURAS

- ECL** - Eletroquimioluminescência
- FSH** - Hormônio folículo-estimulante
- GnRH** - Hormônio liberador de gonadotrofinas
- HHG** - Hipotálamo-hipófise-gonadal
- ICMA** - Imunoquimioluminescência
- IFMA** - Imunofluorometria
- IP** - Índice de pulsatilidade
- LH** - Hormônio luteinizante
- PPC** - Puberdade precoce central
- RM** - Ressonância magnética
- SNC** - Sistema nervoso central
- US** - Ultrassonografia
- VPN** - Valor preditivo negativo
- VPP** - Valor preditivo positivo

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2.

Table 1. Clinical characteristics of the participants according to pubertal stage..... 41

Table 2. Sonographic measurements according to pubertal stage.....43

Table 3. Diagnostic value of PI and sonographic measurements for diagnosis of pubertal onset.....46

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1.

- Figura 1.** Estadiamento puberal de acordo com Tanner.....18
- Figura 2.** Cálculo do índice de pulsatilidade.....23
- Figura 3.** Índice de pulsatilidade das artérias uterinas de acordo com estágio de Tanner (a) e idade (b).....24
- Figura 4.** Padrões de doppler de artérias uterinas: (a) antes da puberdade (ondas de fluxo sistólico estreitas sem fluxo diastólico); (b) início da puberdade (ondas de fluxo sistólico com sinal de fluxo interrompido durante a diástole); (c) final da puberdade (ondas de fluxo sistólico amplo com sinal de fluxo ininterrupto durante a diástole).....25
- Figura 5.** Índice de pulsatilidade das artérias uterinas de acordo com a resposta ao teste com GnRH e quadro clínico. Grupo 1: resposta pré-puberal ao teste de estímulo com GnRH. Grupo 2: resposta puberal ao teste de estímulo com GnRH. Grupo 3: pubarca precoce isolada. Grupo 4: telarca precoce isolada.....26
- Figura 6.** Curva ROC do índice de pulsatilidade (IP), pico de LH, diâmetro longitudinal uterino e diâmetro longitudinal uterino + IP para identificação de desenvolvimento puberal.....28
- ### CAPÍTULO 2.
- Figure 1.** Study flowchart. PI: pulsatility index; US: ultrasonography.....41
- Figure 2.** Mean PI according to Tanner stage (panel A) and pubertal stage (panel B).....42

Figure 3. Comparison between the AUC of ROC curves of PI, uterine volume, uterine longitudinal diameter, endometrium thickness, right and left ovarian volume.....44

Figure 4. Venn diagram displaying the intersection of girls with initial puberty detected by pulsatility index (PI) and uterine volume (n=67), uterine volume only (n=8) and PI only (n=4).....45

Figure S1. Spearman correlation between PI and uterine and ovarian parameters.....53

CAPÍTULO 1

Ultrassonografia Pélvica com Doppler de Artérias Uterinas na Avaliação de Puberdade Precoce em Meninas: Revisão da Literatura

RESUMO

A puberdade precoce ocorre mais frequentemente em meninas e é definida classicamente como o desenvolvimento de características sexuais secundárias antes dos 8 anos de idade nesse gênero. Além dos achados do exame clínico, o diagnóstico de puberdade precoce é feito por meio de avaliação laboratorial hormonal com a dosagem do hormônio luteinizante (LH) sérico elevado e presença de resposta ao teste de estímulo com injeção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH). No entanto, existem limitações desses testes pela falta de consenso do ponto de corte do LH para se considerar uma resposta puberal e custo elevado do teste de estímulo com GnRH. A ultrassonografia (US) pélvica é considerada um método não invasivo, rápido e de baixo custo que atualmente é utilizada como adjuvante na investigação de precocidade sexual. Estudos mostram que meninas com puberdade precoce central (PPC) apresentam ovários e volume uterino maiores em comparação com controles pré-púberes e meninas com telarca precoce isolada; entretanto, a sensibilidade é baixa para o diagnóstico diferencial em virtude da grande sobreposição de valores entre os grupos. O uso do Doppler com cálculo do índice de pulsatilidade (IP) para avaliação da impedância ao fluxo vascular nas artérias uterinas surge para tentar superar essa limitação. Os escassos resultados até o momento sugerem que esta ferramenta pode ser útil para diferenciar meninas púberes das pré-púberes e auxiliar no diagnóstico de precocidade sexual. O objetivo dessa revisão foi identificar e analisar os estudos publicados que avaliaram o uso da US pélvica com Doppler de artérias uterinas para o diagnóstico da puberdade precoce em meninas.

ABSTRACT

Precocious puberty occurs most frequently in girls and is classically defined as the development of secondary sexual characteristics before the age of 8 years in this gender. In addition to the findings of clinical examination, the diagnosis of precocious puberty is made through hormonal laboratory evaluation with the presence of an elevated serum luteinizing hormone (LH) and a positive response to the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) stimulation test. However, there are limitations to these tests due to the lack of consensus on the LH cut-off point to consider a pubertal response and the high cost of the GnRH stimulation test. Pelvic ultrasonography (US) is considered a fast, non-invasive and low-cost method that is currently used as an adjunct in the investigation of sexual precocity. Studies have shown that girls with central precocious puberty (CPP) have larger ovarian and uterine volumes compared to prepubertal controls and girls with isolated premature thelarche; however, the sensitivity is low for differential diagnosis due to the great overlap of values between groups. The use of Doppler with calculation of the pulsatility index (PI) to assess the impedance to vascular flow in the uterine arteries emerges as an attempt to overcome this limitation. The scarce results so far suggest that this instrument can be valuable to differentiate pubertal from prepubertal girls and assist in the diagnosis of sexual precocity. The purpose of this review was to identify and analyze published studies that evaluated the use of pelvic US with Doppler of uterine arteries for the diagnosis of precocious puberty in girls.

INTRODUÇÃO

A puberdade é um processo de maturação biológica que representa a transição física, hormonal e psicológica da infância para a vida adulta, culminando no desenvolvimento de características sexuais secundárias e aquisição da capacidade reprodutiva (1). Os mecanismos envolvidos no início do processo puberal ainda não estão completamente definidos, embora se saiba que há influência de diversos fatores, incluindo os hormônios do tecido adiposo, a função gastrointestinal, a produção de andrógenos pelas adrenais, o estresse físico e psicossocial e a genética (2). Nesse período, ocorre uma reativação do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (HHG), com aumento da secreção pulsátil de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), o qual estimula a secreção dos hormônios luteinizante (LH) e folículo-estimulante (FSH), que por sua vez estimularão a secreção dos esteroides sexuais pelas gônadas e promoverão a gametogênese (1,3). Considera-se puberdade precoce em meninas a presença de características sexuais secundárias antes dos 8 anos de idade, sendo na maioria dos casos de origem central, por maturação prematura do eixo HHG.

Existem dificuldades relacionadas à avaliação laboratorial hormonal na puberdade precoce, tal como a adequada determinação e padronização para cada laboratório dos valores de referência para crianças normais ajustados para o sexo, idade cronológica e estágio puberal. Observa-se que, na prática clínica, apesar de serem de fácil execução, esses métodos diagnósticos estão associados a algumas limitações, tais como resultados conflitantes com o quadro clínico, possíveis erros laboratoriais, custo dos fármacos usados nos testes de estímulo e, dependendo do tipo de teste utilizado, dificuldade em relação à sua importação. Sendo assim, tem-se estudado o valor diagnóstico da ultrassonografia pélvica com avaliação de medidas e morfologia de órgãos reprodutores no diagnóstico de meninas com suspeita de puberdade precoce. Recentemente o uso do Doppler com cálculo do índice de pulsatilidade (IP) para avaliação da impedância ao fluxo vascular nas artérias uterinas tem surgido como alternativa atraente para evidenciar sinais compatíveis com a instalação da puberdade (4).

O objetivo do presente artigo foi identificar e analisar os estudos publicados que avaliaram o uso da ultrassonografia (US) pélvica com Doppler de artérias uterinas para o diagnóstico de puberdade precoce em meninas.

ETIOLOGIA DA PUBERDADE PRECOCE EM MENINAS

A manifestação inicial de puberdade em meninas ao exame físico usualmente é a presença de botão mamário (telarca), que representa o estágio de Tanner 2 (1,5). A faixa etária normal para seu início representa o tempo em que 95% das crianças apresenta-se com o estágio de Tanner 2 (Figura 1), correspondendo ao intervalo de 8 a 13 anos no sexo feminino (6). Logo, a definição clássica de puberdade precoce em meninas é o desenvolvimento de características sexuais secundárias antes dos 8 anos (7). Embora alguns estudos tenham indicado que a telarca ocorre mais cedo agora do que na década de 1960, a idade da menarca permaneceu relativamente estável nas últimas décadas, após um período de declínio gradual até meados do século 20 na maioria das populações industrializadas (8,9). Portanto, parece que o intervalo entre a telarca e a menarca aumentou (10).

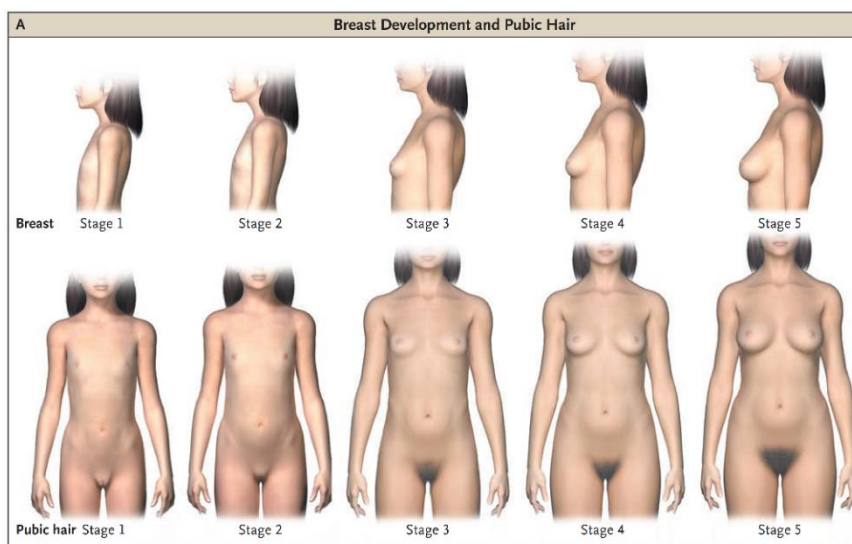


Figura 1. Estadiamento puberal de acordo com Tanner. *Adaptado de Carel JC, Léger J. N Engl J Med 2018;358(22):2366-77. (7)*

A puberdade precoce ocorre mais frequentemente em meninas (15-20:1), sendo sua incidência estimada em 1 caso para 5.000-10.000 meninas nos Estados Unidos (11,12). A prevalência descrita foi de 0,2% em um estudo dinamarquês, de 37 por 100.000 meninas em um trabalho espanhol e de 55,9 por 100.000 meninas em um estudo da Coréia do Sul (13-15).

Classifica-se a puberdade precoce em central (PPC), também chamada de gonadotrofina-dependente ou verdadeira, quando há maturação prematura do eixo HHG; e periférica (PPP), também denominada gonadotrofina-independente, quando há secreção autônoma de hormônios sexuais gonadais ou hormônios adrenais de causa genética, tumoral ou por fonte exógena (3). Em 80% dos casos, a precocidade sexual é dependente de gonadotrofinas (6). Aproximadamente 90% das meninas com PPC tem causa desconhecida, sendo classificadas como idiopáticas (16). As alterações cerebrais mais comuns encontradas são hamartoma hipotalâmico, encefalite, hidrocefalia, neurofibromatose tipo 1, meningomielocele e encefalopatia neonatal (17).

A avaliação clínica de um paciente com suspeita de puberdade precoce deve incluir anamnese detalhada, com idade do aparecimento e velocidade de progressão dos caracteres sexuais secundários, presença de exposição a esteroides sexuais, uso de medicamentos, sintomas relacionados à doença no sistema nervoso central (SNC), tais como cefaleia, alterações visuais, alteração de personalidade, antecedente de trauma cranioencefálico ou de infecções de SNC, história familiar e neonatal. O exame físico é composto pela aferição de medidas antropométricas com cálculo da velocidade de crescimento, avaliação dos caracteres sexuais secundários segundo a classificação de Tanner (desenvolvimento mamário e presença de pelos pubianos - Figura 1). A dermatoscopia também deve ser realizada em busca de alterações: manchas café com leite podem sugerir Síndrome de McCune Albright ou neurofibromatose tipo I.

DIAGNÓSTICO

AValiação hormonal

A avaliação laboratorial inicial da puberdade precoce em meninas inclui a dosagem de gonadotrofinas (LH e FSH) e de estradiol. A dosagem de FSH é de pouca utilidade, mas valores supressos em associação com esteroides sexuais elevados sugerem a presença de puberdade precoce periférica (18,19). O exame de LH deve preferencialmente ser coletado pela manhã com ensaios ultrassensíveis, com limite de detecção de 0,1 UI/L (18). Os ensaios de alta sensibilidade disponíveis são a imunofluorimetria (IFMA), imunoquimioluminescência (ICMA) e eletroquimioluminescência (ECL). Valores de LH basal acima de 0,6 UI/L (IFMA) ou acima de 0,3 UI/L (ICMA, ECL) são considerados puberais, embora valores abaixo destes níveis não excluam PPC (18,20,21). A sensibilidade do LH basal coletado pela manhã para o diagnóstico de PPC varia de 56 a 100%, com especificidade de 64 a 100%, dependendo do ponto de corte e ensaio utilizado (11). As concentrações de gonadotrofinas devem ser interpretadas com cautela em crianças menores de 2 anos, visto que níveis elevados de LH e FSH podem ser fisiológicos nesse período da vida (6). A dosagem de estradiol apresenta baixa sensibilidade para diagnóstico de PPC e grande sobreposição de valores entre meninas púberes e pré-púberes (3). No entanto, valores elevados de estradiol na presença de gonadotropinas supressas sugerem fortemente PPP (12).

Quando há suspeita de PPC na presença de LH basal não diagnóstico, está indicado o teste de estímulo com GnRH, com medição de LH em uma única amostra 30 a 40 minutos após a aplicação intravenosa de GnRH de curta ação (gonadorrelina 100 µg) (22). Um pico de LH estimulado de pelo menos 5 UI/L é considerado ativação da puberdade (21). Na indisponibilidade de GnRH, usa-se um agonista de GnRH de longa ação, leuprorrelina 3,75 mg, com dosagem de LH após 30 a 180 minutos (amostra de sangue única ou em mais pontos de tempo, dependendo do protocolo usado) após a aplicação intramuscular. Uma resposta maior que 5 UI/L é sugestiva de puberdade, mas outros pontos de corte, variando de 4 a 8 UI/L, já foram sugeridos (6,11,23,24). As principais desvantagens deste teste são o alto custo e risco de reação no local da aplicação.

AValiação POR IMAGEM

Raio-X de mãos e punhos

A realização de Raio-X de mão e punho para a avaliação da idade óssea está indicada em todas as meninas com precocidade sexual (25). Considera-se um avanço significativo de idade óssea quando excede em 1 ano ou encontra-se 2 desvios-padrão acima da idade cronológica, ainda que, em fases iniciais da puberdade precoce, possa não haver um avanço expressivo (10,25,26). A avaliação da idade óssea também pode ser usada para o cálculo da altura predita na vida adulta, embora tenda a superestimá-la (27).

Ressonância magnética do encéfalo

A ressonância magnética (RM) do encéfalo é recomendada para todas as meninas com PPC de início antes dos 6 anos de idade ou com sintomas de doenças do SNC (16). A sua realização em meninas entre 6-8 anos sem sintomas é controversa, uma vez que a prevalência de lesão cerebral é baixa nesta população (3% em uma meta-análise), além de ser um exame de alto custo, com administração endovenosa de contraste e que pode necessitar de sedação (10,28,29). Logo, alguns autores sugerem que a decisão seja individualizada, com discussão de prós e contras com a família (16). No entanto, muitos especialistas recomendam que a RM seja feita rotineiramente em todas as meninas menores de 8 anos com PPC (3,10,11,30).

Ultrassonografia Pélvica

A US pélvica é um método não invasivo, rápido e de baixo custo, com utilidade já bem estabelecida na investigação de dor pélvica, massas pélvicas e genitália ambígua (31). Os seguintes parâmetros uterinos são avaliados: diâmetro longitudinal, diâmetro transversal, espessura endometrial, diâmetro anteroposterior e cálculo da razão entre o diâmetro do fundo e cérvix. Avaliam-se também as medidas ovarianas, número de folículos e diâmetro máximo do maior folículo. Fatores relacionados ao paciente, como obesidade e distensão das alças intestinais, podem prejudicar a precisão do exame. O volume uterino

e ovariano é calculado pela fórmula: comprimento x diâmetro anteroposterior x diâmetro transversal x 0,5233 (31).

O tamanho e morfologia do útero e ovários mantêm-se relativamente estáveis na infância: o volume de cada ovário é menor que 2 cm³, com folículos menores que 9 mm, e o comprimento uterino é menor que 4 cm (32). Pontos de corte para volume uterino pré-púbere variam de 1,8 a 4 cm³ em estudos (31). O fundo e a cérvice uterinos apresentam largura semelhante, formando uma configuração tubular, com razão fundo-cérvice em torno de 1, e o endométrio geralmente não é visível (33). Durante a puberdade, o útero apresenta aumento progressivo, seu corpo torna-se mais largo que a cérvice (razão fundo-cérvice 2/1 a 3/1), assumindo a típica forma de pera na mulher adulta, e com endométrio visível, com sua espessura variando conforme a fase do ciclo menstrual em meninas pós menarca (31,32,34). Os ovários também aumentam, atingindo volume médio de 2 a 4 cm³ em meninas pré-menarca e de 8 cm³ (ampla variação, 2,5-20 cm³) no período pós-menarca (33).

Muitos investigadores têm documentado que meninas com PPC apresentam ovários e volume uterino maiores em comparação com controles pré-púberes e meninas com telarca precoce (35-37). No entanto, a sensibilidade é baixa para o diagnóstico diferencial em virtude da grande sobreposição de valores entre os grupos (38-41). A US pélvica também tem sido estudada para o acompanhamento de meninas com PPC em tratamento com bloqueio hormonal, com evidência de redução do comprimento e volume uterino, dos volumes ovarianos, da presença de eco endometrial visível e do número de folículos após 3 meses de bloqueio (42,43).

Doppler de Artérias Uterinas

A ultrassonografia com Doppler utiliza como princípio básico as mudanças na frequência que ocorrem quando o som é difundido por objetos que se movem em relação à fonte do som, podendo ser aplicado à investigação das velocidades do fluxo sanguíneo (44).

O uso do Doppler facilita a avaliação da circulação útero-ovariana e da medida da impedância ao fluxo nessa árvore vascular. O estudo das artérias

uterinas a partir deste método é empregado na prática clínica principalmente na gestação e medicina fetal (45,46).

O IP, definido como a diferença entre o pico de fluxo sistólico e de fluxo diastólico final dividida pela velocidade média de fluxo (Figura 2), reflete a resistência ao fluxo sanguíneo no vaso distal ao ponto de avaliação (44). Considerando-se que as condições proximais de fluxo sanguíneo permaneçam constantes, um aumento na impedância distal resultará em um aumento no IP e, correspondentemente, uma diminuição na impedância distal resultará em uma diminuição do IP. A avaliação é feita pelo cálculo da média do IP da artéria uterina direita e esquerda ou o pelo IP da artéria de mais fácil visualização, já que estudos prévios descreveram não haver diferença no fluxo uterino à esquerda e à direita (44,47,48). O principal mecanismo proposto para as mudanças no padrão de fluxo vascular é a presença de receptores de estrogênio nas paredes das artérias uterinas, que promovem uma redução da resistência vascular quando há estímulo hormonal (49).

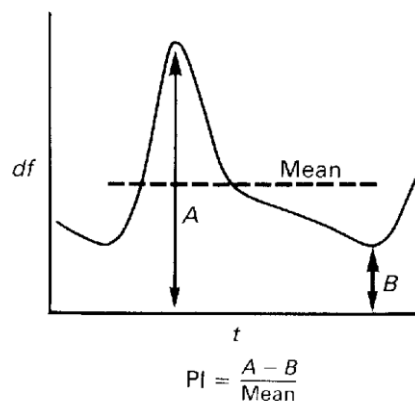


Figura 2. Cálculo do índice de pulsatilidade. (44)

Em 1989, Long et al foi pioneiro na avaliação do Doppler de artérias uterinas em pacientes adultas fora do período gestacional (44). Foram avaliadas 26 voluntárias (média de idade de 27 anos) com ciclos menstruais regulares, sem uso de anticoncepcional e sem histórico de doença pélvica. Encontrou-se um IP que variou de 1,67 a 5,23 (média 3,25), sem diferença significativa entre artéria uterina direita e esquerda, entre período pré-ovulatório ou pós-ovulatório, e entre mulheres com e sem gestação prévia.

O IP foi avaliado em diferentes fases da vida em um estudo transversal que incluiu 133 mulheres saudáveis na Dinamarca com idade entre 6 e 25 anos (50). Foi constatado um IP elevado em pacientes com Tanner 1 e 2, com queda do valor no Tanner 3, persistindo baixo no Tanner 4, com novo aumento nas adolescentes Tanner 5 e mulheres adultas (Figura 3), possivelmente refletindo o aumento do fluxo sanguíneo para o útero que está em crescimento progressivo, com novo aumento do IP na idade adulta, quando o útero está desenvolvido e com angiogênese completa.

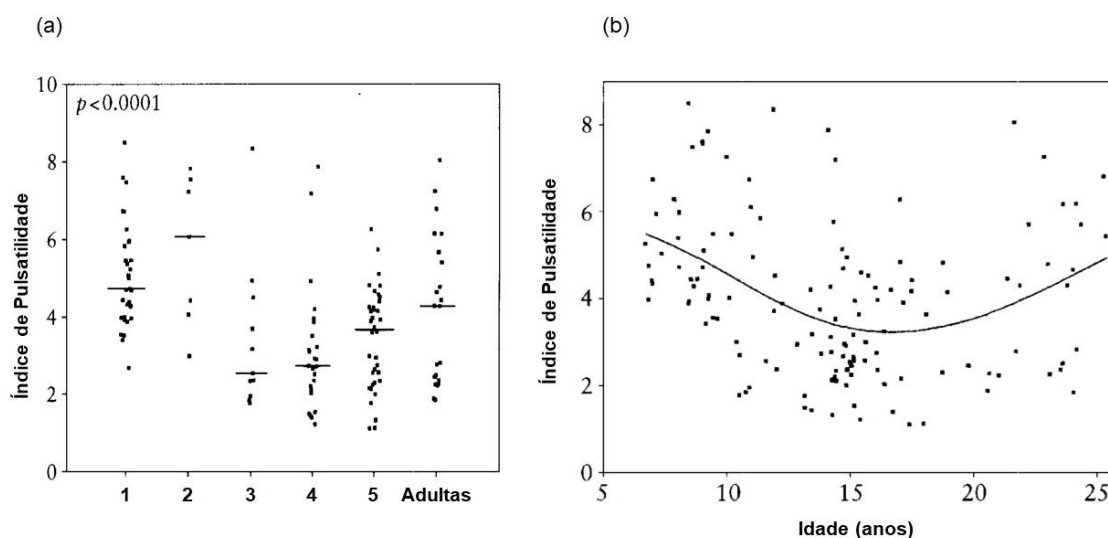


Figura 3. Índice de pulsatilidade das artérias uterinas de acordo com estágio de Tanner (a) e idade (b). *Adaptado de Mosfeldt Laursen E et al. Ultrasound Obstet Gynecol 1996;8:341-345. (50)*

Tendo em vista a escassez de dados na literatura para determinar valores de referência do IP na população pediátrica, em especial na fase peri-puberal, Ziereinsen et al realizou estudo com 61 meninas saudáveis entre 2 e 15 anos (média 10,3 anos) (51). Detectou-se correlação negativa significativa entre IP e volume ovariano, comprimento e diâmetro transverso uterino. Na avaliação com Doppler, identificaram-se três padrões de fluxo (Figura 4). O padrão tipo 1, caracterizado por ondas de fluxo sistólico estreitas sem fluxo diastólico, foi observado em 24 meninas (idade média de 7 anos e 9 meses; 19 classificadas como Tanner 1, 2 como Tanner 2 e 1 como Tanner 3), que tiveram IP médio de 6,27 (3,5-8). O padrão 2 - fluxo interrompido durante a diástole - foi encontrado em 10 meninas com idade média de 11 anos, IP médio de 3,7 (2,5-5), as quais tinham estágio puberal Tanner 1 (n=5), Tanner 2 (n=2) e Tanner 3 (n=3). Por fim,

o padrão tipo 3 (fluxo ininterrupto durante a diástole) foi encontrado em 26 meninas com idade média de 12 anos e 9 meses, IP médio de 2,0 (1,1-2,96), sendo a metade em período pós menarca e as demais Tanner 2 ou 3. Neste estudo, também foram avaliadas 4 meninas com puberdade precoce, as quais apresentavam inicialmente fluxo do tipo 3 na avaliação com Doppler. Após o início do tratamento, o padrão de fluxo mudou para o tipo 1 ou 2 e houve aumento do IP, exceto em no caso onde houve falha de bloqueio hormonal, em que persistiu com IP baixo e com padrão tipo 3. Por outro lado, a avaliação com Doppler de 60 meninas iranianas não encontrou diferença significativa no fluxo vascular entre diferentes estágios de puberdade (52). Neste estudo, o IP encontrado foi de $1,65 \pm 0,29$ no grupo pré-puberal (n=20), $1,64 \pm 0,44$ no grupo de meninas púberes antes da menarca (n=20) e $1,47 \pm 0,25$ no grupo pós menarca (n=20) - valores inesperadamente baixos em todos os grupos.

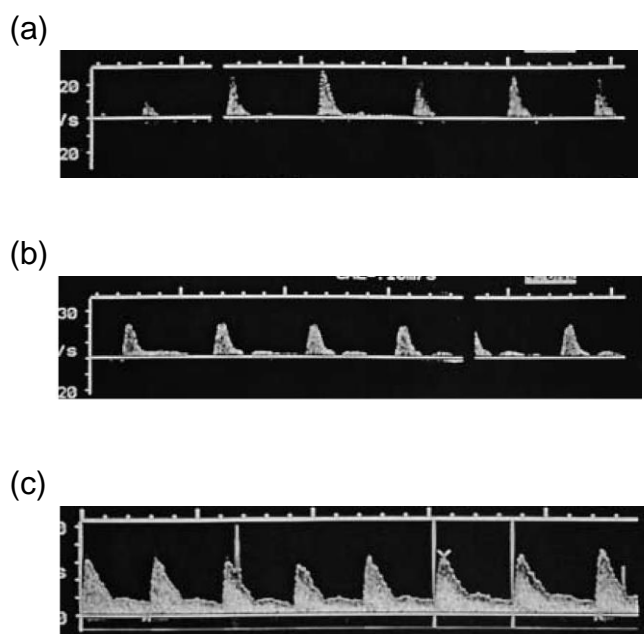


Figura 4. Padrões de Doppler de artérias uterinas: (a) antes da puberdade (ondas de fluxo sistólico estreitas sem fluxo diastólico); (b) início da puberdade (ondas de fluxo sistólico com sinal de fluxo interrompido durante a diástole); (c) final da puberdade (ondas de fluxo sistólico amplo com sinal de fluxo ininterrupto durante a diástole). *Adaptado de Ziereisen F et al. Pediatr Radiol 2001;31:712-719.* (51)

O papel da US pélvica com Doppler no diagnóstico diferencial de precocidade sexual em meninas foi estudado por um grupo italiano (Battaglia C et al) (53). Foram incluídas 69 meninas com telarca ou pubarca antes dos 8 anos,

divididas em três grupos: Tanner M2P2 com resposta pré-puberal ao teste de estímulo com GnRH (grupo 1, n=17), Tanner M2P2 com resposta puberal ao teste (grupo 2, n=16), pubarca precoce isolada (grupo 3, n=20) e telarca precoce isolada (grupo IV, n=20). Considerou-se uma resposta puberal um LH basal >0,3 UI/L, um pico de LH >15 UI/L após estímulo com GnRH 100 mcg, uma razão do pico de LH/FSH >0,66 ou uma diferença entre LH basal e pico >7 UI/L. O menor IP foi encontrado no grupo 2 (resposta puberal ao teste), sendo o valor abaixo de 2,5 considerado indicativo de útero em crescimento (Figura 5). Neste estudo, o IP baixo teve maior acurácia diagnóstica de puberdade precoce do que o volume uterino acima de 4 ml e a presença de eco endometrial visível. A sensibilidade foi de 94%, especificidade de 96%, valor preditivo positivo (VPP) de 88%, valor preditivo negativo (VPN) de 98%, com concordância com teste de estímulo com GnRH de 98,5%. Em adição, o IP se correlacionou inversamente com o volume uterino ($r = -0.529$; $P < 0.001$) e com as dosagens plasmáticas de FSH ($r = -0.429$; $P = 0.001$), LH ($r = -0.507$; $P = 0.001$) e estradiol ($r = -0.366$; $P = 0.024$).

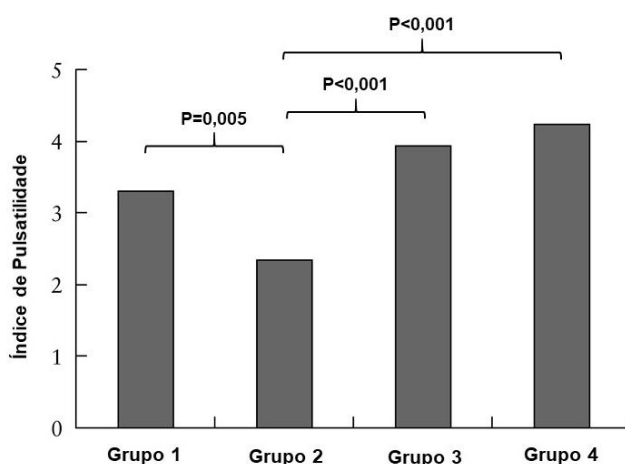


Figura 5. Índice de pulsatilidade das artérias uterinas de acordo com a resposta ao teste com GnRH e quadro clínico. Grupo 1: resposta pré-puberal ao teste de estímulo com GnRH. Grupo 2: resposta puberal ao teste de estímulo com GnRH. Grupo 3: pubarca precoce isolada. Grupo 4: telarca precoce isolada. *Adaptado de Battaglia C et al. Ultrasound Obstet Gynecol. 2003;22(3):277-83. (53)*

Mais recentemente, outro grupo italiano (Paesano et al) publicou o maior estudo até o momento, utilizando o Doppler de artérias uterinas com a finalidade de auxílio no diagnóstico de puberdade precoce (4). Foram incluídas 207

meninas classificadas como pré-púberes, 176 com puberdade fisiológica e 112 com PPC, que tiveram o IP de $6,4 \pm 1,4$, $3,4 \pm 1,1$ e $4,1 \pm 1,5$, respectivamente, com valor significativamente menor no grupo de puberdade fisiológica. A Figura 6 mostra a área sob a curva dos diferentes critérios para puberdade: a combinação de IP e diâmetro longitudinal uterino foi semelhante ao pico de LH no teste de estímulo, indicando ser um método não invasivo útil para detectar a presença de puberdade. O ponto de corte de IP de 4,6 teve acurácia de 87%, sensibilidade de 83%, especificidade de 94%, VPN de 80% e VPP de 95%. Um ponto forte deste trabalho foi avaliar a concordância intra e interobservador em uma amostra independente de 15 pacientes. Encontrou-se um coeficiente de correlação intraclassa para a concordância intraobservador de 0,82 (IC 95% 0,689-0,926) e interobservador de 0,79 (IC 95% 0,689-0,926). Por outro lado, uma limitação foi que os autores utilizaram como critério de inclusão no grupo púbere a presença de pelo menos 2 dos critérios: Tanner \geq M2, pico de LH pós GnRH acima de 5 mU/ml, diâmetro longitudinal uterino acima de 35 mm. Assim, das 207 meninas classificadas como pré-púberes, apenas 71 eram Tanner M1 (121 pacientes eram M2 e 13 pacientes eram M3), prejudicando a validade deste grupo, já que a maioria era clinicamente púbere. Chama a atenção a grande diferença entre o ponto de corte de IP encontrado pelo estudo de Battaglia C et al (IP 2,5) e pelo trabalho de Paesano et al (IP 4,6) (4,53). Possíveis explicações incluem o critério distinto para definição de estado puberal e o perfil diferente de pacientes incluídas (apenas abaixo de 8 anos no primeiro estudo e até 17 anos no segundo).

Dessa forma, ainda não estão definidos os pontos de corte do IP que possam distinguir meninas pré-púberes das meninas com puberdade inicial definida pelo exame físico apenas. Além disso, diferentes combinações dos parâmetros de volume uterino e ovariano em adição à medida do IP, todos obtidos de forma simultânea e sem acréscimo de custos, não foram ainda exploradas adequadamente como teste diagnóstico para definir a presença de puberdade. Por fim, como fatores étnicos podem afetar o padrão e a temporalidade do desenvolvimento puberal, são justificados estudos que definam pontos de corte para cada população distinta.

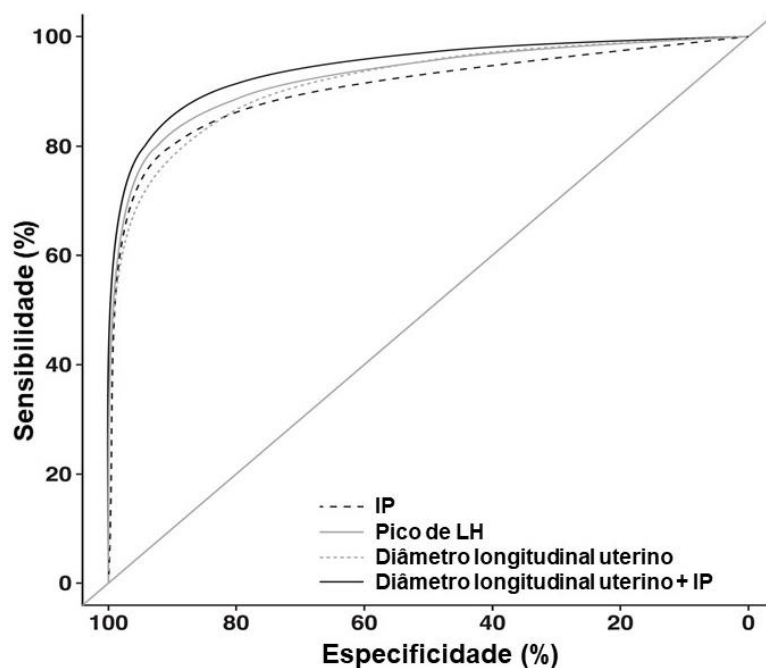


Figura 6. Curva ROC do índice de pulsatilidade (IP), pico de LH, diâmetro longitudinal uterino e diâmetro longitudinal uterino + IP para identificação de desenvolvimento puberal. *Adaptado de Paesano PL et al. AJR Am J Roentgenol. 2019;213(2):451-457. (4)*

CONCLUSÕES

A dosagem de gonadotrofinas, principalmente do LH, após o estímulo com GnRH, é o padrão de referência para o diagnóstico bioquímico da PPC. No entanto, não há ainda um consenso na literatura quanto ao ponto de corte do LH sérico para se considerar uma resposta puberal. Além disso, é um exame invasivo, com efeito adverso de dor no local da aplicação da injeção, e que demanda tempo e profissional capacitado para coleta de sangue em crianças para a sua realização. Finalmente, apresenta custo elevado - o preço médio do agonista do GnRH está em torno de 250 reais.

Atualmente, a US pélvica é utilizada como uma ferramenta adjuvante para a investigação de meninas com sinais de precocidade sexual, uma vez que pode indicar a presença de patologia adrenal, cistos e tumores ovarianos, além de sinais de estímulo hormonal no útero e ovários. Entretanto, estudos indicam uma sobreposição de valores das medidas do útero e ovários entre meninas pré-púberes e púberes, limitando o seu potencial diagnóstico. Logo, o estudo com

Doppler surge para tentar superar essa limitação. Deve-se ressaltar que é um exame não invasivo, rápido (duração média de 15 minutos), indolor e de menor custo (em média 150 reais). Todavia, é um exame operador-dependente, podendo ter a sua acurácia diagnóstica influenciada pela experiência do radiologista e pela qualidade do aparelho de US. Os principais resultados até o momento indicam que o Doppler de artérias uterinas com cálculo do IP pode ser útil para diferenciar meninas púberes das pré-púberes e auxiliar no diagnóstico de puberdade precoce. Um valor de IP abaixo de 4,6 mostrou associação com a presença de resposta puberal positiva no teste de estímulo hormonal e pode ser indicativo do início da puberdade. No entanto, há a necessidade de estudos maiores, com populações variadas de outras etnias e com acompanhamento durante a terapia de bloqueio hormonal para que essa ferramenta possa vir a ser incluída de forma sistematizada na prática clínica.

REFERÊNCIAS

1. Abreu AP, Kaiser UB. Pubertal development and regulation. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2016;4(3):254-264.
2. Livadas S, Chrousos GP. Molecular and Environmental Mechanisms Regulating Puberty Initiation: An Integrated Approach. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;10:828.
3. Brito VN, Spinola-Castro AM, Kochi C, Kopacek C, Silva PC, Guerra-Júnior G. Central precocious puberty: revisiting the diagnosis and therapeutic management. *Arch Endocrinol Metab.* 2016;60(2):163-72.
4. Paesano PL, Colantoni C, Mora S, di Lascio A, Ferrario M, Esposito A, et al. Validation of an Accurate and Noninvasive Tool to Exclude Female Precocious Puberty: Pelvic Ultrasound With Uterine Artery Pulsatility Index. *AJR Am J Roentgenol.* 2019;213(2):451-457.
5. Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of puberal changes in girls. *Arch Dis Child.* 1969;44:291-303.
6. Parent AS, Teilmann G, Juul A, Skakkebaek NE, Toppari J, Bourguignon JP. The timing of normal puberty and the age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends, and changes after migration. *Endocr Rev.* 2003;24: 668–93.
7. Carel JC, Léger J. Precocious Puberty. *N Engl J Med.* 2008;358(22):2366-77.
8. Bradley SH, Lawrence N, Steele C, Mohamed Z. Precocious puberty. *BMJ.* 2020;368:l6597
9. Sørensen K, Mouritsen A, Aksglaede L, Hagen CP, Mogensen SS, Juul A. Recent secular trends in pubertal timing: implications for evaluation and diagnosis of precocious puberty. *Horm Res Paediatr.* 2012;77(3):137-45.
10. Soriano-Guillén L, Argente J. Central precocious puberty, functional and tumor-related. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2019;33(3):101262.
11. Latronico AC, Brito VN, Carel JC. Causes, diagnosis, and treatment of central precocious puberty. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2016;(3):265-274.
12. Partsch CJ, Sippell WG. Pathogenesis and epidemiology of precocious puberty. Effects of exogenous oestrogens. *Hum Reprod Update.* 2001;7:292–302.
13. Teilmann G, Pedersen CB, Jensen TK, Skakkebaek NE, Juul A. Prevalence and incidence of precocious pubertal development in Denmark: an epidemiologic study based on national registries. *Pediatrics.* 2005;116(6):1323-8.
14. Soriano-Guillén L, Corripio R, Labarta JI, Cañete R, Castro-Feijóo L, Espino R, et al. Central precocious puberty in children living in Spain: incidence, prevalence, and influence of adoption and immigration. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(9):4305-13.
15. Kim SH, Huh K, Won S, Lee KW, Park MJ. A Significant Increase in the Incidence of Central Precocious Puberty among Korean Girls from 2004 to 2010. *PLoS One.* 2015;10(11):e0141844.
16. Aguirre RS, Eugster EA. Central precocious puberty: From genetics to treatment. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2018;32(4):343-354.

17. Stephen MD, Zage PE, Waguespack SG. Gonadotropin-dependent precocious puberty: neoplastic causes and endocrine considerations. *Int J Pediatr Endocrinol*. 2011;2011(1):184-502.
18. Carel JC, Eugster EA, Rogol A, Ghizzoni L, Palmert MR, ESPE-LWPES GnRH Analogs Consensus Conference Group, et al. Consensus statement on the use of gonadotropin-releasing hormone analogs in children. *Pediatrics*. 2009;123(4):e752-62.
19. Lee PA. Laboratory monitoring of children with precocious puberty. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 1994;148(4):369-76.
20. Brito VN, Batista MC, Borges MF, Latronico AC, Kohek MB, Thirone AC, et al. Diagnostic value of fluorometric assays in the evaluation of precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(10):3539-44.
21. 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(4):1424-9.
22. Kaplowitz P, Bloch C; Section on Endocrinology, American Academy of Pediatrics. Evaluation and referral of children with signs of early puberty. *Pediatrics*. 2016;137(1).
23. Neely EK, Hintz RL, Wilson DM, Lee PA, Gautier T, Argente J, et al. Normal ranges for immunochemiluminometric gonadotropin assays. *J Pediatr*. 1995;127(1):40-6.
24. Sathasivam A, Garibaldi L, Shapiro S, Godbold J, Rapaport R. Leuprolide stimulation testing for the evaluation of early female sexual maturation. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010;73(3):375-81.
25. Melmed S, Kenneth P, Larsen PR, Kronenberg H. *Williams Textbook of Endocrinology*. 13th ed. Philadelphia: Elsevier, 2016.
26. Greulich WW, Pyle SI. *Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist*. 2nd ed. Stanford, CA, USA: Stanford University Press; 1959.
27. Bar A, Linder B, Sobel EH, Saenger P, DiMartino-Nardi J. Bayley-Pinneau method of height prediction in girls with central precocious puberty: correlation with adult height. *J Pediatr*. 1995;126(6):955-8.
28. Eugster EA. Update on Precocious Puberty in Girls. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2019 Oct;32(5):455-459.
29. Cantas-Orsdemir S, Garb JL, Allen HF. Prevalence of cranial MRI findings in girls with central precocious puberty: a systematic review and meta-analysis. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2018;31(7):701-710.
30. Mogensen SS, Aksglaede L, Mouritsen A, Sørensen K, Main KM, Gideon P, et al. Pathological and incidental findings on brain MRI in a single-center study of 229 consecutive girls with early or precocious puberty. *PLoS One*. 2012;7(1):e29829.
31. de Vries L, Phillip M. Role of pelvic ultrasound in girls with precocious puberty. *Horm Res Paediatr*. 2011;75(2):148-52.
32. Ziereisen F, Guissard G, Damry N, Avni EF. Sonographic imaging of the paediatric female pelvis. *Eur Radiol*. 2005;15(7):1296-309.

33. Garel L, Dubois J, Grignon A, Filiatrault D, Van Vliet G. US of the pediatric female pelvis: a clinical perspective. *Radiographics*. 2001;21(6):1393-407.
34. Asăvoaie C, Fufezan O, Coșarcă M. Ovarian and uterine ultrasonography in pediatric patients. Pictorial essay. *Med Ultrason*. 2014;16(2):160-7.
35. Wen X, Wen D, Zhang H, Zhang H, Yang Y. Observational study pelvic ultrasound a useful tool in the diagnosis and differentiation of precocious puberty in Chinese girls. *Medicine*. 2018;97(10):e0092.
36. Binay C, Simsek E, Bal C. The correlation between GnRH stimulation testing and obstetric ultrasonographic parameters in precocious puberty. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2014;27(11-12):1193-9.
37. Kılıç A, Durmuş MS, Ünüvar E, Yıldız I, Aydın BK, Uçar A, et al. Clinical and laboratory characteristics of children referred for early puberty: preponderance in 7-8 years of age. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2012;4(4):208-12.
38. Lee SH, Joo EY, Lee JE, Jun YH, Kim MY. The Diagnostic Value of Pelvic Ultrasound in Girls with Central Precocious Puberty. *Chonnam Med J*. 2016;52(1):70-4.
39. Yu J, Shin HY, Lee SH, Kim YS, Kim JH. Usefulness of pelvic ultrasonography for the diagnosis of central precocious puberty in girls. *Korean J Pediatr*. 2015;58(8):294-300.
40. Eksioğlu AS, Yılmaz S, Cetinkaya S, Cinar G, Yıldız YT, Aycan Z. Value of pelvic sonography in the diagnosis of various forms of precocious puberty in girls. *J Clin Ultrasound*. 2013;41(2):84-93.
41. Sathasivam A, Rosenberg HK, Shapiro S, Wang H, Rapaport R. Pelvic ultrasonography in the evaluation of central precocious puberty: comparison with leuprolide stimulation test. *J Pediatr*. 2011;159(3):490-5.
42. Jensen AM, Brocks V, Holm K, Laursen EM, Müller J. Central precocious puberty in girls: internal genitalia before, during, and after treatment with long-acting gonadotropin-releasing hormone analogues. *J Pediatr*. 1998;132(1):105-8.
43. de Vries L, Phillip M. Pelvic ultrasound examination in girls with precocious puberty is a useful adjunct in gonadotrophin-releasing hormone analogue therapy monitoring. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011;75(3):372-7.
44. Long MG, Boulton JE, Hanson ME, Begent RH. Doppler time velocity waveform studies of the uterine artery and uterus. *Br J Obstet Gynaecol*. 1989;96(5):588-93.
45. Abu Bakar MR, Abdul Kadir A, Abdul Wahab SZ, Abdul Karim AH, Nik Hussain NH, Mohd Noor N, et al. Randomized Controlled Trial on the Effect of *Channa striatus* Extract on Measurement of the Uterus, Pulsatility Index, Resistive Index of Uterine Artery and Superficial Skin Wound Artery in Post Lower Segment Caesarean Section Women. *PLoS One*. 2015;10(7):e0133514.
46. Mandia L, Cavoretto P, Duca P, Candiani M, Cetin I, Savasi V. Evaluation of Uterine Artery Doppler and Estrogen Milieu in Oocyte Donation Pregnancies-A Pilot Study. *Diagnostics (Basel)*. 2020;10(5):254.

47. Steer CV, Campbell S, Pampiglione JS, Kingsland CR, Mason BA, Collins WP. Transvaginal colour flow imaging of the uterine arteries during the ovarian and menstrual cycles. *Hum Reprod.* 1990;5(4):391-5.
48. Battaglia C, Regnani G, Mancini F, Iughetti L, Venturoli S, Flamigni C. Pelvic sonography and uterine artery color Doppler analysis in the diagnosis of female precocious puberty. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2002;19(4):386-91.
49. Perrot-Applanat M, Groyer-Picard MT, Garcia E, Lorenzo F, Milgrom E. Immunocytochemical demonstration of estrogen and progesterone receptors in muscle cells of uterine arteries in rabbits and humans. *Endocrinology.* 1988;123(3):1511-9.
50. Mosfeldt Laursen E, Holm K, Brocks V, Jarden M, Müller J. Doppler assessment of flow velocity in the uterine artery during pubertal maturation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1996;8:341–345.
51. Ziereisen F, Heinrichs C, Dufour D, Saerens M, Avni EF. The role of Doppler evaluation of the uterine artery in girls around puberty. *Pediatr Radiol.* 2001;31:712–719.
52. Golestani R, Sheikvatan M, Behpour AM, Mehdizadeh M, Hajiashrafi AA. Relationship between uterine and ovarian arterial blood flow measured by Doppler sonography at different stages of puberty. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2008;47(1):62-5.
53. Battaglia C, Mancini F, Regnani G, Persico N, Iughetti L, De Aloysio D. Pelvic ultrasound and color Doppler findings in different isosexual precocities. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;22(3):277-83.

CAPÍTULO 2

Accuracy of Doppler Assessment of the Uterine Arteries for the Diagnosis of Pubertal Onset in Girls

Amanda Veiga Cheuiche¹

Letícia Guimarães da Silveira¹

Gustavo Monteiro Escott¹

Iara Regina Siqueira Lucena³

Márcia Puñales⁴

Fabíola Costenaro⁵

Cristiane Kopacek⁶

Leila Pedroso de Paula^{1,2}

Sandra Pinho Silveiro^{1,2}

¹Medical Science Program: Endocrinology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil

²Endocrine Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil

³Department of Radiology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil

⁴Instituto da Criança com Diabetes e Hospital Criança Conceição, Grupo Hospitalar Conceição, Porto Alegre, Brazil

⁵Endocrine Division, Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, Brazil

⁶Pediatric Endocrinology Division, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Brazil

Correspondence:

Sandra Pinho Silveiro

Serviço de Endocrinologia, HCPA

Rua Ramiro Barcelos, 2350 – Prédio 12, 4º andar

Porto Alegre, RS

E-mail: ssilveiro@hcpa.edu.br

RESUMO

Introdução: A ultrassonografia (US) pélvica com análise por Doppler da árvore uterina permite avaliar a impedância do fluxo sanguíneo por meio do índice de pulsatilidade (IP), que tem sido sugerido como parâmetro para definir o início da puberdade.

Métodos: Estudo transversal que incluiu meninas com desenvolvimento puberal normal. O diagnóstico de início da puberdade foi dado pela presença de escore de Tanner de desenvolvimento mamário ≥ 2 . A avaliação por Doppler do IP das artérias uterinas (definido como a diferença entre o pico do fluxo sistólico e o fluxo diastólico final dividido pela velocidade média do fluxo) e medidas uterinas, endometriais e ovarianas foram registradas. Realizaram-se análises por correlação de Spearman e curvas ROC com Youden.

Resultados: Foram incluídas 169 meninas de 5 a 16 anos que realizaram 202 US pélvicas. Meninas pré-púberes ($n = 39$) tiveram média de IP significativamente maior do que meninas na puberdade inicial ($n = 92$) e na puberdade tardia ($n = 71$), respectivamente $6,70 \pm 2,15$ vs. $4,14 \pm 1,55$ vs. $2,81 \pm 1,05$, $P < 0,001$ para todas as comparações. A análise da curva ROC demonstrou que o IP foi capaz de identificar o início da puberdade com área sob a curva de $0,838 \pm 0,04$ ($P < 0,001$), e o ponto de corte do IP de 5,05 apresentou sensibilidade de 77%, especificidade de 85%, valor preditivo positivo (VPP) de 92% e acurácia de 79%. A combinação de IP $< 5,05$ e volume uterino $> 3,75 \text{ cm}^3$ apresentou sensibilidade de 73%, especificidade de 95%, VPP de 97% e acurácia de 79% para detectar a puberdade inicial.

Conclusões: Detectou-se uma redução significativa do IP durante o desenvolvimento puberal, refletindo um aumento progressivo do fluxo sanguíneo para o útero. Combinado com o volume uterino, o IP pode ser uma ferramenta não invasiva valiosa e altamente específica para confirmar o início da puberdade.

ABSTRACT

Introduction: Pelvic ultrasonography (US) with Doppler analysis of the uterine tree allows the evaluation of blood flow impedance through the pulsatility index (PI), which has been suggested as a parameter to define pubertal onset.

Objective: To evaluate the accuracy of the PI of the uterine arteries for the diagnosis of pubertal onset in girls.

Methods: Cross-sectional study with girls with normal pubertal development. The diagnosis of puberty initiation was the presence of Tanner breast development score ≥ 2 . Pelvic US and Doppler assessed PI of the uterine arteries (defined as the difference between the peak systolic flow and end-diastolic flow divided by the mean flow velocity), uterine, endometrial and ovarian measurements were evaluated. Spearman correlation and ROC curves with Youden were performed.

Results: We included 169 girls aged 5-16 years who performed 202 pelvic US exams. Prepubertal girls ($n = 39$) had mean PI significantly higher than girls in initial puberty ($n = 92$) and in late puberty ($n = 71$), respectively 6.70 ± 2.15 vs. 4.14 ± 1.55 vs. 2.81 ± 1.05 , $P < 0.001$ for all the comparisons. ROC curve analysis demonstrated that the PI was able to identify the onset of puberty with an area under the curve (AUC) of 0.838 ± 0.04 , $P < 0.001$, and the cutoff point of PI of 5.05 presented a sensitivity of 77%, a specificity of 85%, a positive predictive value (PPV) of 92% and an accuracy of 79%. The combination of PI < 5.05 plus uterine volume $> 3.75 \text{ cm}^3$ presented a sensitivity of 73%, a specificity of 95%, a PPV of 97% and an accuracy of 79% to detect initial puberty.

Conclusions: We found a significant reduction of the PI during pubertal development, reflecting a progressive increase in blood flow to the uterus. Combined with uterine volume, the PI can be a valuable non-invasive and highly specific tool to confirm the onset of puberty.

INTRODUCTION

Pelvic ultrasonography (US) is a quick, non-invasive, and low-cost method for the evaluation of uterine development and ovarian volume, and identification of ovarian cysts and tumors (1).

The size and morphology of the uterus and ovaries are relatively stable in childhood (2). During puberty, the uterus fundus progressively increases in size, becoming wider than the cervix and assuming the typical pear shape found in adult women (3,4). The endometrial lining is then seen and varies according to phase of the menstrual cycle (3). Ovarian size also increases, and multiple cysts can be seen during each menstrual cycle, representing stimulated follicles (1).

Doppler analysis enables the assessment of utero-ovarian circulation and flow impedance measurement in this vascular tree. The pulsatility index (PI), defined as the difference between the peak systolic flow and end-diastolic flow divided by the mean flow velocity, reflects blood flow impedance in the vessel distal to the sampling point (5). Considering that the proximal blood flow conditions remain constant, an increase in distal impedance will result in an increase in PI, and, correspondingly, a decrease in distal impedance will result in a decrease in PI.

Few studies have evaluated flow velocity in the uterine arteries of healthy women in different age groups and pubertal stages (5-9). Most of the studies observed an increased PI in the prepubertal phase and a reduction during puberty, which could reflect a progressive increase in blood flow to the uterus (5,7,9). On the other hand, one small study did not find significant differences in vascular flow assessment among girls with different pubertal stages (8).

The aim of this study was to evaluate the accuracy of the PI of the uterine arteries for the diagnosis of pubertal onset in girls, in comparison or in combination with the usual parameters of uterine and ovarian volumes.

PATIENTS AND METHODS

Study population

We conducted a cross-sectional study with evaluation of girls with normal pubertal development who were examined by a pediatric endocrinologist with evaluation of pubertal stage according to the Tanner classification and performed a pelvic US with Doppler assessment of uterine arteries.

The study protocol was approved by the Hospital de Clínicas de Porto Alegre Research Ethics Committee. Standards for Reporting Diagnostic accuracy studies (STARD) guidelines were followed according to the latest protocol update (10).

Healthy girls were eligible if they had thelarche and pubarche after 8 years of age, and no history or evidence of any uncontrolled systemic disease. The diagnosis of puberty initiation was the presence of Tanner breast development score greater than or equal to 2 assessed by visual inspection and breast palpation. Tanner breast staging is classified as 1 (no glandular tissue), 2 (breast bud appearance), 3 (further enlargement of breast and areola), 4 (areola and papilla forming a secondary mound above level of breast) and 5 (mature stage, with projection of papilla only, related to recession of areola) (11). We divided the girls into three stages: prepuberty (Tanner breast development score 1), initial puberty (Tanner breast development score 2 and 3) and late puberty (Tanner breast development score 4 and 5). Exclusion criteria included use of estrogen or progestogen for any purpose, or any uncontrolled disease.

Four pediatric endocrinologists agreed to participate in the study. Clinical data such as the age of menarche, pubarche and thelarche were recorded. Standing height was measured using a stadiometer to the nearest 0.1 cm; weight was measured on a digital scale with 10 g of precision. Body mass index [BMI = weight (kg)/height (m²)] was calculated. Target height was calculated according to the formula already established in the literature for girls: [(father's height cm - 13 cm] + mother's height cm/2 (12).

Ultrasound and Doppler examination

The transabdominal pelvic US examination was performed by the same experienced pediatric radiologist, with an US transducer (Aplio 400, Toshiba; Aplio 300, Toshiba) using a convex (2–5 MHz) or microconvex (5–8 MHz) probe, according to the size of the subject) in all included participants, using the full

bladder technique. A 50-Hz filter was used to remove low-frequency signals produced by motion artifacts, and the angle of insonation was adjusted to obtain maximum color intensity. Three to five consecutive heartbeats were analyzed.

Uterine and ovarian volume, and endometrial thickness were recorded. The uterine and the ovarian volumes were calculated by the ellipsoid formula: volume (cm³) = longitudinal diameter (cm) × transverse diameter (cm) × anteroposterior diameter (cm) × 0.5233. Doppler signal was obtained from right and left uterine arteries. The PI was calculated in uterine arteries, and the average value of both arteries was recorded, since no significant difference was observed between right and left arteries. Each examination took an average of 15 minutes plus 10 minutes for the delivery of the printed result.

An independent sample of 4 girls with different pubertal stages was included to assess intraobserver variability. Three PI measurements were performed during the sonographic exam, by the same operator. The coefficient of variation (CV) and the intraclass correlation coefficient were analyzed.

STATISTICAL ANALYSIS

Results were presented as mean ± standard deviation or median (range), unless otherwise stated. The Kolmogorov–Smirnov test was employed to assess the distribution of variables. Continuous parametric variables were analyzed using Student's t test or ANOVA. The comparisons among the stages of puberty were conducted by one-way ANOVA or Kruskal-Wallis tests. Correlations between PI and uterine and ovarian parameters were assessed using Spearman's correlation coefficients. ROC curves were used to assess the capacity of PI and other sonographic parameters to discriminate between initial puberty and prepuberty. The optimal cutoff values were defined using the Youden Index (sensitivity + specificity – 1) (13). We compared the area under the curve (AUC) with the Bootstrap test for two correlated ROC curves (14). We also calculated sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV), positive likelihood ratio (LR+); negative likelihood ratio (LR-) and accuracy for the cutoff points found (the formulas are described in the Supplement).

The sample size was calculated to estimate the sensitivity and specificity of the PI to diagnose the onset of puberty, using the PSS Health tool online version (15). Considering a 95% confidence level, amplitude for the desired confidence interval of 20% using the Wilson method, prevalence of the outcome of 40%, expected sensitivity of 83% and expected specificity of 94% as mentioned in Paesano PL et al. (9), a total sample size of 133 subjects was determined.

All analyses were performed in the SPSS software version 20 and the R 4.0.4 (The R Project for Statistical Computing). The level of significance adopted was 5%.

RESULTS

A total of 169 girls aged 5 to 16 years (mean 11.3 ± 1.8 years) who performed 202 pelvic US with Doppler assessment were included. Twenty-seven girls had done a pelvic US in more than one of the three pubertal stages.

The study flowchart is shown in Figure 1. Mean age of thelarche, pubarche and menarche were 10.1 ± 1.2 , 10.2 ± 1.2 and 12.1 ± 1.2 years respectively. Table 1 summarizes the clinical characteristics of the participants.

Figure 2 depicts the mean PI according to Tanner stage (panel A) and study groups (panel B). No differences were observed in mean PI measurements between Tanner 2 and 3 ($P = 0.939$) and between Tanner 4 and 5 ($P = 0.833$). All other comparisons were statistically significant. Prepubertal girls had a mean PI significantly higher than girls in initial puberty and in late puberty, respectively 6.70 ± 2.15 vs. 4.14 ± 1.55 vs. 2.81 ± 1.05 ($P < 0.001$ for all the comparisons).

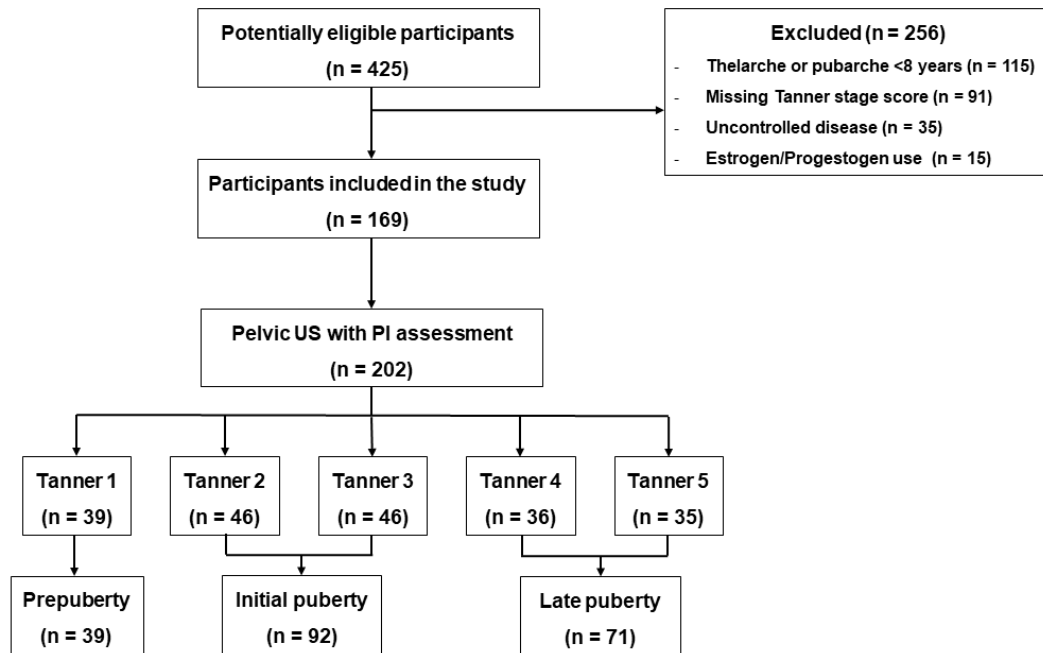


Figure 1. Study flowchart. PI: pulsatility index; US: ultrasonography.

Table 1. Clinical characteristics of the participants according to pubertal stage.

	Prepuberty (N = 39)	Initial puberty (N = 92)	Late puberty (N = 71)
Age at pelvic US (years)	9.3 ± 1.3	11.0 ± 1.4	12.7 ± 1.4
Age of thelarche (years)	-	10.2 ± 1.2	10.0 ± 0.9
Age of pubarche (years)	10.2 ± 1.3	10.3 ± 1.4	10.2 ± 0.9
Age of menarche (years)	-	-	12.1 ± 1.2
Age of maternal menarche (years)	12.4 ± 2.7	12.9 ± 1.4	12.7 ± 1.6
Prematurity (%)	15	14	14
Weight (kg)	32.0 ± 5.0	39.8 ± 9.0	48.9 ± 12.1
Height (cm)	133.6 ± 7.2	143.8 ± 8.9	154.0 ± 7.7
BMI (kg/m ²)	17.9 ± 2.4	19.2 ± 3.5	20.6 ± 4.5
BMI z-score	0.60 (-2.1-1.9)	0.61 (-2.2-2.3)	0.64 (-3.0-2.2)
Overweight (%)	28	28	24
Obesity	0	2	3
Target height (cm)	162 ± 4.4	162.7 ± 5.7	161 ± 6.0

Table 2 presents the sonographic measurements of the participants according to pubertal stage. Uterine volume and longitudinal diameter, endometrial thickness and ovarian volumes of prepubertal girls were significantly different from those of girls in initial and late puberty. Additionally, the group of initial puberty had different measurements in comparison with the group of late puberty.

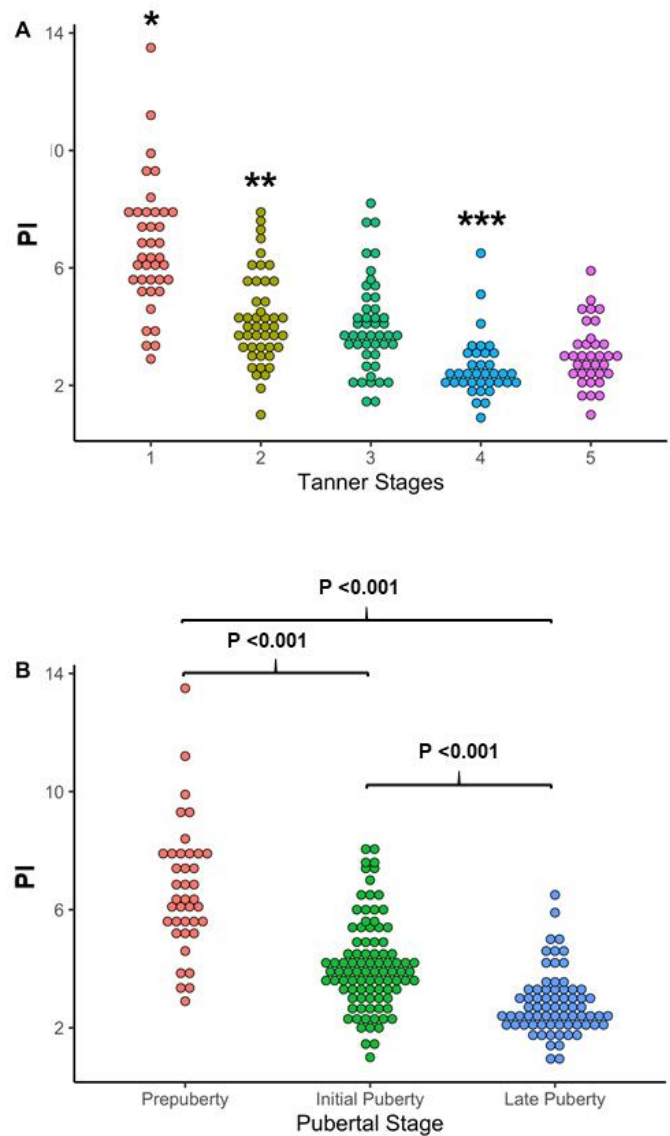


Figure 2. Mean PI according to Tanner stage (panel A) and study groups (panel B). *P < 0.001 for comparison with stages 2,3,4 and 5. **P < 0.001 for comparison with stages 4 and 5. ***P < 0.001 for comparison with stages 2 and 3.

Table 2. Sonographic measurements according to pubertal stage.

Parameter	Prepuberty	Initial puberty	Late puberty	P
Pulsatility index	6.70 ± 2.15	4.14 ± 1.55	2.81 ± 1.05	<0.001
Uterine volume (cm ³)	2.60 (1.2-6.5)	6.30 (1.7-29.4)	34.3 (8.1-92)	<0.001
Uterine longitudinal diameter (cm)	3.35 ± 0.47	4.30 ± 0.83	6.24 ± 1.0	<0.001
Endometrial thickness (mm)	0 (0-3.2)	2.2 (0-9)	6.0 (1.2-13)	<0.001
Right ovarian volume (cm ³)	1.64 ± 0.79	3.55 ± 1.98	7.16 ± 4.54	<0.001
Left ovarian volume (cm ³)	1.62 ± 0.85	3.30 ± 1.82	6.03 ± 4.40	<0.001
Mean ovarian volume (cm ³)	1.64 ± 0.77	3.43 ± 1.77	6.55 ± 3.76	<0.001

ROC curve analysis demonstrated that the PI was able to identify the onset of puberty with an AUC of 0.838 ± 0.04 ($P < 0.001$), which was comparable to the AUC of other ultrasound parameters (Figure 3).

Table 3 presents the AUC, cutoff, sensitivity, specificity, PPV, NPV, positive and negative likelihood ratio, and accuracy of PI and the other pelvic US parameters. The PI cutoff point of 5.05 presented a sensitivity of 77%, specificity of 85%, PPV of 92%, NPV of 61% and an accuracy of 79% to detect initial puberty. When we combined the cutoffs of PI below 5.05 plus uterine volume above 3.75 cm³, we found a higher specificity (95%) and PPV (97%). The overlap in the Venn diagram for the detection of initial puberty with PI and uterine volume is shown in Figure 4.

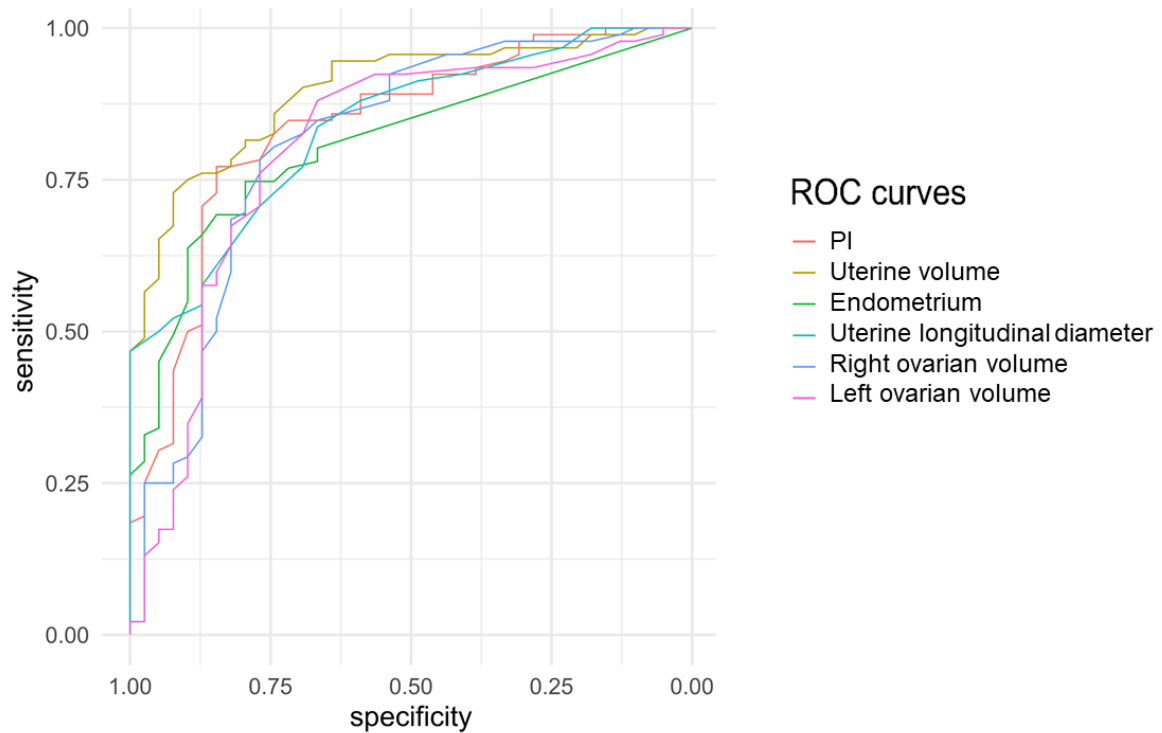


Figure 3. Comparison between the AUC of ROC curves of PI, uterine volume, uterine longitudinal diameter, endometrium thickness, right and left ovarian volume. Diagonal line is regression line.

We found a strong negative correlation between PI and uterine volume ($r_s = -0.72$, $P < 0.001$) and a moderate negative correlation with endometrial thickness ($r_s = -0.68$, $P < 0.001$), uterine longitudinal diameter ($r_s = -0.68$, $P < 0.001$) and right ($r_s = -0.60$, $P < 0.0001$) and left ($r_s = -0.59$, $P < 0.001$) ovarian volumes (Figure S1 of Supplement).

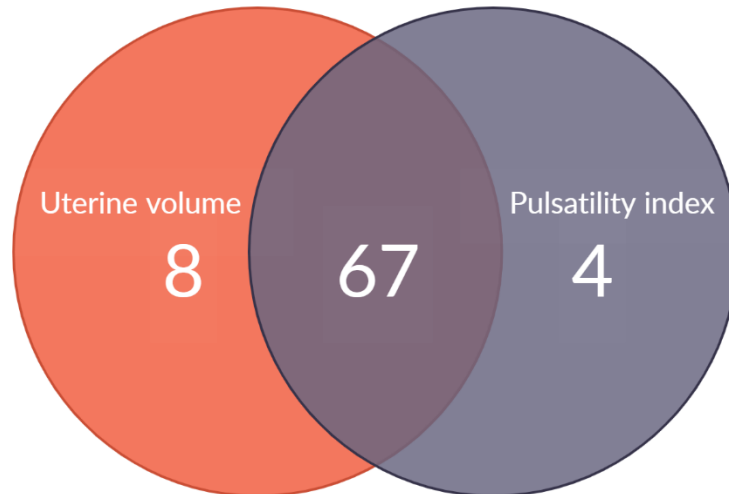


Figure 4. Venn diagram displaying the intersection of girls with initial puberty detected by pulsatility index (PI) and uterine volume (n=67), uterine volume only (n=8) and PI only (n=4). Thirteen girls with initial puberty were not detected by any of the methods.

The intraclass correlation coefficient for intraobserver agreement was 0.967 (95% CI 0.782-0.998, $P < 0.001$), indicating an excellent reliability. The CV was 12%.

Table 3. Diagnostic value of PI and sonographic measurements for diagnosis of pubertal onset.

Parameter	AUC	Cutoff	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)	LR+	LR-	Accuracy (%)
Pulsatility index	0.838	5.05	77	85	92	61	5.13	0.27	79
Uterine volume	0.897	3.75 cm ³	81	79	90	65	3.86	0.24	80
Pulsatility index and uterine volume combined	0.866	PI 5.05 UV 3.75 cm ³	73	95	97	60	14.6	0.28	79
Uterine longitudinal diameter	0.837	3.55 cm	84	68	86	63	2.63	0.24	79
Right ovarian volume	0.811	2.15 cm ³	78	77	89	60	3.39	0.29	78
Left ovarian volume	0.802	2.15 cm ³	76	77	89	58	3.30	0.31	76
Endometrium thickness	0.809	1.35 mm	75	79	90	57	3.57	0.32	76

AUC: area under the curve; PPV: positive predictive value; NPV: negative predictive value; LR+: positive likelihood ratio; LR-: negative likelihood ratio; UV: uterine volume;

DISCUSSION

We found that prepubertal girls had significantly higher Doppler PI of uterine arteries than girls in initial puberty and in late puberty. The cutoff point of PI of 5.05 had the highest accuracy for the detection of initial puberty. The combination of PI below 5.05 plus uterine volume above 3.75 cm³ had the highest PPV (97%). Additionally, we identified significant negative correlations between PI and uterine volume, endometrial thickness, uterine longitudinal diameter and ovarian volumes.

The present study is, to the best of our knowledge, the first Latin American study to evaluate the contribution of Doppler of uterine arteries for the detection of signs of pubertal onset. A previous Danish study found a significant increase in the uterine artery flow velocity during puberty, with a decline in vascular resistance in mid-puberty (5). In contrast to our results, they found a significant decrease in the PI only after Tanner stage 3. Finally, a new increase in the PI was detected in Tanner 5 girls and adult women, possibly indicating a complete angiogenesis (5). Change in the Doppler signal pattern of uterine arteries was also identified in a report that comprised girls between 2 and 15 years of age (7). They found narrow systolic flow waves and an average PI of 6.27 in prepubertal subjects, interrupted diastolic flow waves and a mean PI of 3.7 in girls in the beginning of external sexual development, and an uninterrupted signal during the diastolic interval at the end of puberty (mean PI of 2.0). As with our results, a negative correlation between PI and uterine and ovarian parameters was shown. The main mechanism proposed for the changes in vascular flow pattern is the existence of estrogen receptors on the walls of the uterine arteries, which promotes a reduction in vascular resistance in the presence of hormonal stimulation (16,17). On the other hand, a study with girls from Tehran found no significant difference in uterine vascular flow between those without pubertal signs, those with signs of puberty, but without menarche, and those after the beginning of menstruation (8). However, the sample size was only 60 girls.

We found a PI cutoff point of 5.05 as the most accurate to identify the onset of puberty. When we combined this cutoff with the presence of a uterine volume greater than 3.75 cm³, both specificity and PPV increased. Therefore, patients with a mean PI below 5.05 together with a uterine volume above 3.75 cm³ can

have pubertal development confirmed with great confidence. A recent Italian study identified a PI cutoff of 4.6 to differentiate pubertal from prepubertal girls, with an accuracy of 87% and, when combined with a longitudinal uterine diameter of 35 mm, the accuracy increased to 91% (9). Contrasting to our study, which used only the clinical parameter (Tanner's breast stage) as a reference test for the diagnosis of beginning of puberty, a combination of clinical (Tanner stage), laboratory (LH peak after GnRH stimulus) and sonographic (longitudinal uterine diameter) criteria were used for the diagnosis of pubertal activation. The hormonal evaluation increases the reliability in the reference standard, but the criteria used generated the inclusion of girls with Tanner 2 and 3 in the prepubertal group. In addition, girls with physiologic and central precocious puberty were included and analyzed together. A previous Italian study considered a PI below 2.5 as indicative of a rapidly growing uterus in a sample of girls with signs of sexual precocity, with a 98.5% agreement with the GnRH stimulation test (18). However, it did not include a control group of girls with normal pubertal development.

The endometrial thickness seems to be less studied compared to other sonographic parameters. An Israeli study found a low sensitivity (57%) and a specificity of 100% for the presence of endometrial echo to differentiate central precocious puberty from isolated thelarche (19). In contrast, Chinese authors identified endometrial thickness as the best parameter (AUC of 0.933 with a cutoff point of 2.6 mm) to differentiate healthy prepubertal girls from patients with central precocious puberty in the age group of 8 to 10 years (20). In our study, the sensitivity of the endometrial thickness was slightly lower than the other sonographic parameters, but with a specificity comparable to that of the uterine volume. As for the ovarian volume, the cutoff point to identify the beginning of puberty varies considerably in the literature. A previous Brazilian study found a cutoff for ovarian volume of 1.0 cm³ (21). We found a higher value of 2.15 cm³. However, cutoffs of up to 4.4 cm³ have been already described (22). As previously described, right and left ovaries had similar volumes in our study population (21,23,24).

The strengths of our study were the presence of careful clinical evaluation to define the presence of normal puberty, the large sample size, and also that all pelvic sonographic exams were performed by the same experienced pediatric

radiologist and with the same machine. Additionally, the recommended steps to analyze a diagnostic test were strictly followed, including STARD guidelines and rigorous statistical analyses. Finally, due to the well-recognized distinct ethnical influences on pubertal development, it is of utmost importance to build a pattern for each different population. The limitation of our study was that hormonal laboratory evaluation for confirmation of the beginning of puberty was not available.

In conclusion, we found a significant reduction of the PI during pubertal development, reflecting a progressive increase in blood flow to the uterus. Alone or in combination with uterine volume, the PI can be a valuable non-invasive and highly specific tool to confirm the onset of puberty.

FUNDING

This work was supported by grants from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX process number 16/2551-0000-476-5), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE) Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

CONFLICT OF INTEREST

The Authors declare that there is no conflict of interest.

REFERENCES

1. Ziereisen F, Guissard G, Damry N, Avni EF. Sonographic imaging of the paediatric female pelvis. *Eur Radiol.* 2005;15(7):1296-309.
2. de Vries L, Phillip M. Role of pelvic ultrasound in girls with precocious puberty. *Horm Res Paediatr.* 2011;75(2):148-52.
3. Garel L, Dubois J, Grignon A, Filiatrault D, Van Vliet G. US of the pediatric female pelvis: a clinical perspective. *Radiographics.* 2001;21(6):1393-407.
4. Asăvoaie C, Fufezan O, Coșarcă M. Ovarian and uterine ultrasonography in pediatric patients. Pictorial essay. *Med Ultrason.* 2014;16(2):160-7.
5. Mosfeldt Laursen E, Holm K, Brocks V, Jarden M, Müller J. Doppler assessment of flow velocity in the uterine artery during pubertal maturation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1996;8:341–345.
6. Long MG, Boulton JE, Hanson ME, Begent RH. Doppler time velocity waveform studies of the uterine artery and uterus. *Br J Obstet Gynaecol.* 1989;96(5):588-93.
7. Ziereisen F, Heinrichs C, Dufour D, Saerens M, Avni EF. The role of Doppler evaluation of the uterine artery in girls around puberty. *Pediatr Radiol.* 2001;31:712–719.
8. Golestani R, Sheikhatan M, Behpour AM, Mehdizadeh M, Hajiashrafi AA. Relationship between uterine and ovarian arterial blood flow measured by Doppler sonography at different stages of puberty. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2008;47(1):62-5.
9. Paesano PL, Colantoni C, Mora S, di Lascio A, Ferrario M, Esposito A, et al. Validation of an Accurate and Noninvasive Tool to Exclude Female Precocious Puberty: Pelvic Ultrasound With Uterine Artery Pulsatility Index. *AJR Am J Roentgenol.* 2019;213(2):451-457.
10. Cohen JF, Korevaar DA, Altman DG, Bruns DE, Gatsonis CA, Hooft L, et al. STARD 2015 guidelines for reporting diagnostic accuracy studies: explanation and elaboration. *BMJ Open.* 2016;6:e012799.
11. Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child.* 1969;44:291-303.
12. Tanner JM, Goldstein H, Whitehouse RH. Standards for children's height at ages 2-9 years allowing for heights of parents. *Arch Dis Child.* 1970;45(244):755-62.
13. Youden WJ. Index for rating diagnostic tests. *Cancer.* 1950;3(1):32-5.
14. Venkatraman ES, Begg CB. A distribution-free procedure for comparing receiver operating characteristic curves from a paired experiment. *Biometrika.* 1996; 83:835–848.
15. Power and Sample Size for Health Researchers [Internet] https://hcupa-unidade-bioestatistica.shinyapps.io/PSS_Health/ Accessed 02 Dec 2020.
16. Perrot-Applanat M, Groyer-Picard MT, Garcia E, Lorenzo F, Milgrom E. Immunocytochemical demonstration of estrogen and progesterone receptors in muscle cells of uterine arteries in rabbits and humans. *Endocrinology.* 1988;123(3):1511-9.

17. de Ziegler D, Bessis R, Frydman R. Vascular resistance of uterine arteries: physiological effects of estradiol and progesterone. *Fertil Steril*. 1991;55(4):775-9.
18. Battaglia C, Mancini F, Regnani G, Persico N, Iughetti L, De Aloysio D. Pelvic ultrasound and color Doppler findings in different isosexual precocities. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2003;22(3):277-83.
19. de Vries L, Horev G, Schwartz M, Phillip M. Ultrasonographic and clinical parameters for early differentiation between precocious puberty and premature thelarche. *Eur J Endocrinol*. 2006;154(6):891-8.
20. Wen X, Wen D, Zhang H, Zhang H, Yang Y. Observational study pelvic ultrasound a useful tool in the diagnosis and differentiation of precocious puberty in Chinese girls. *Medicine*. 2018;97(10):e0092.
21. Herter LD, Golendziner E, Flores JA, Moretto M, Di Domenico K, Becker E Jr, et al. Ovarian and uterine findings in pelvic sonography: comparison between prepubertal girls, girls with isolated thelarche, and girls with central precocious puberty. *J Ultrasound Med*. 2002;21(11):1237-46.
22. Badouraki M, Christoforidis A, Economou I, Dimitriadis AS, Katzos G. Evaluation of pelvic ultrasonography in the diagnosis and differentiation of various forms of sexual precocity in girls. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008;32(6):819-27.
23. Buzi F, Pilotta A, Dordoni D, Lombardi A, Zaglio S, Adlard P. Pelvic ultrasonography in normal girls and in girls with pubertal precocity. *Acta Paediatr* 1998;87:1138–1145.
24. Haber HP, Wollmann HA, Ranke MB. Pelvic ultrasonography: early differentiation between isolated premature thelarche and central precocious puberty. *Eur J Pediatr* 1995; 154:182–186.

SUPPLEMENT

Diagnostic Accuracy Measures

- Sensitivity: $TP / (TP+FN)$
- Specificity: $TN / (TN+FP)$
- Positive predictive value: $TP / (TP+FP)$
- Negative predictive value: $TN / (TN+FN)$
- Accuracy: $(TP+TN) / (TP+TN+FP+FN)$
- Positive likelihood ratio: $sensitivity / (1-specificity)$
- Negative likelihood ratio: $(1-sensitivity) / specificity$

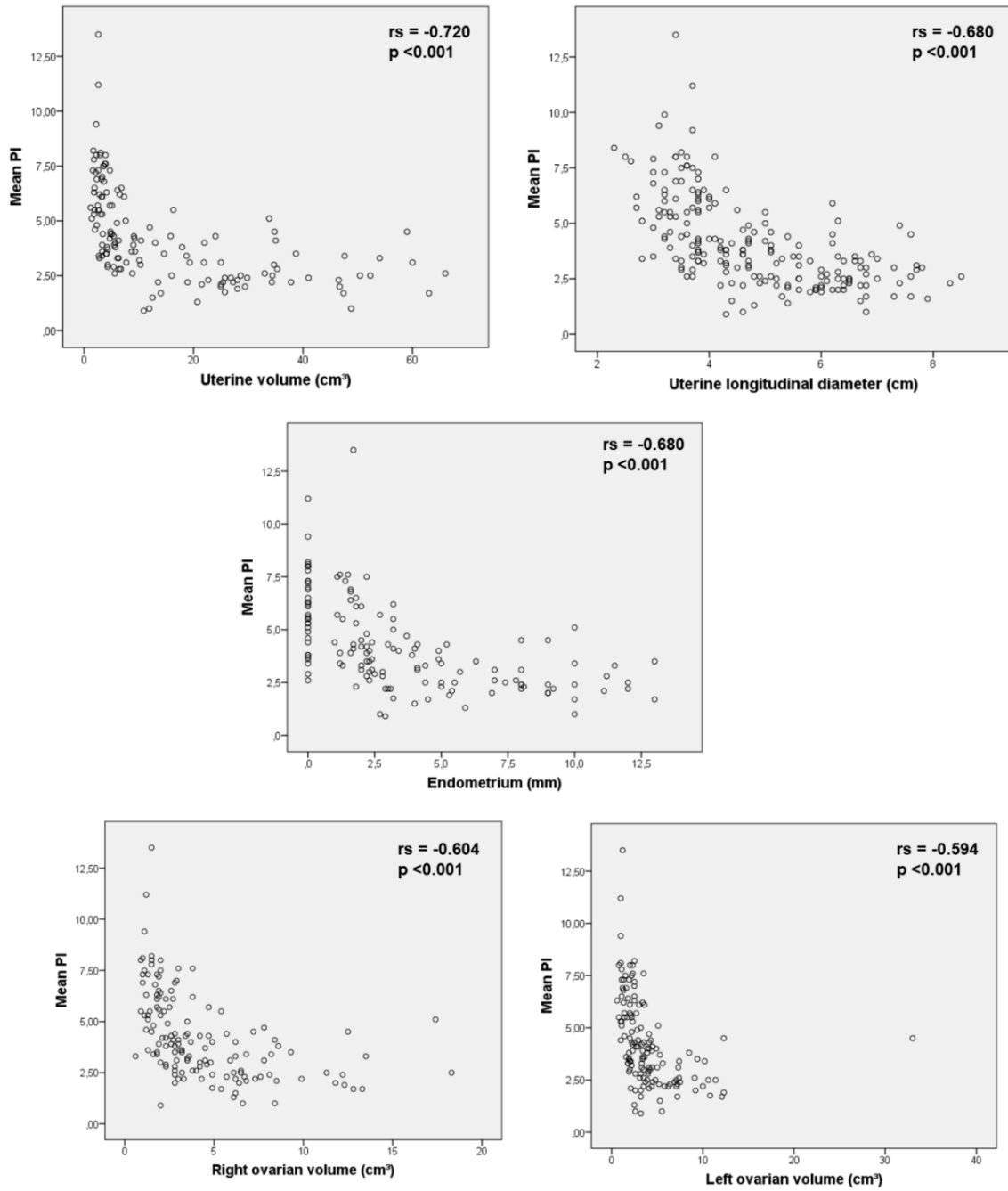


Figure S1. Spearman correlation between PI and uterine and ovarian parameters.