

CONCENTRACION DE HORMONA LUTEINIZANTE EN EL SUERO DE LA MUJER NORMAL °

Drs.: FAUSTO GARMENDIA (*); ESTEBAN KESSERU (***) y LUIS A. LLERENA (***)

INTRODUCCION:

La incorporación de las técnicas radioinmunológicas en la investigación endocrinológica por Berson y col. en 1956 (1), ha permitido la exacta cuantificación de las proteínas o polipéptidos con actividad hormonal en la sangre, donde suelen encontrarse en concentraciones muy bajas, especialmente en condiciones metabólicas basales. A este progreso no se ha exceptuado la determinación de las gonadotropinas tal como la hormona luteinizante (LH).

En 1961, Wide, Roos y Gemzell (2), utilizando el método de la inhibición de la hemaglutinación, describieron por primera vez, que la LH reaccionaba inmunológicamente en forma cruzada con el suero anti-hormona coriónica gonadotrófica. Este conocimiento y la obtención de LH humana altamente purificada (3) permitió elaborar métodos radioinmunológicos, primeramente para el dosaje de hormona coriónica gonadoerófica humana (HCG) (4) (5) y luego para la determinación de LH (6) (7) (8) en sangre.

Mediante las técnicas en referencia es posible medir hormona luteinizante en pequeñas cantidades de suero o plasma, lo que permite seguir en forma reiterada las variaciones que ocurren tanto en condiciones fisiológicas como en patológicas, que afecten el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal. El empleo de esta nueva metodología ha dado lugar en los últimos años a la rectificación de varios conceptos de la fisiología humana en este campo (9) (10), como se podrá apreciar en la confirmación de datos, que hemos obtenido en nuestro laboratorio. Esta comunicación da a conocer los resultados alcanzados en nuestro medio, empleando una técnica radioinmunológica y con un mayor número de constataciones, que en oportunidades anteriores (11) (12).

(°) Realizado con donativos de Schering AG Berlín y del Instituto Hipólito Unanue, Lima.

(*) Instituto de Investigaciones Clínicas, Departamento Académico de Medicina Humana y Centro de Investigaciones. Instituto de Biología Andina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Departamento de Medicina, Hospital Dos de Mayo, Lima.

(**) Departamento de Ginecología y Obstetricia, Universidad Peruana Cayetano Heredia.

(***) Departamento de Ginecología y Obstetricia e Instituto de Investigaciones de Altura, Universidad Peruana Cayetano Heredia.

MATERIAL Y METODOS:

Se ha determinado hormona luteinizante en el suero sanguíneo, aplicando el procedimiento de doble anticuerpo descrito por Odell y col. (8) (9). Con este objeto se marcó hormona luteinizante purificada de origen humano (proporcionada gentilmente por la Dra. Anne S. Hartree, Departamento de Bioquímica, Universidad de Cambridge, Inglaterra) con iodo 125 "carrier free" (Unión Carbide), siguiendo el procedimiento de Greenwood y col. (13). Como standard se utilizó el 2do. Preparado Internacional de Referencia (2nd. IRP, el cual contiene 40 UI de LH y FSH por ampolleta).

La fuente del primer anticuerpo fue un suero anti-HCG obtenido en conejo, diluido a 1/60,000 (Worcester Foundation), cuya especificidad ha sido determinada anteriormente (14). Para separar las hormonas, libre y unida al primer anticuerpo, se usó como fuente de segundo anticuerpo un suero anti-gamma globulina de conejo obtenido en cabras y diluido a 1/16 (Antibodies Incorporated), previa adición de suero normal de conejo al 1%.

Para las diluciones de la hormona marcada, standards y antisueros se empleó un buffer de fosfatos 0.01 M, pH 7.8, con Merthiolate al 1: 10,000 (donativo de Eli Lilly del Perú) y suero albúmina humana al 0.3% (Pentex Incorporated).

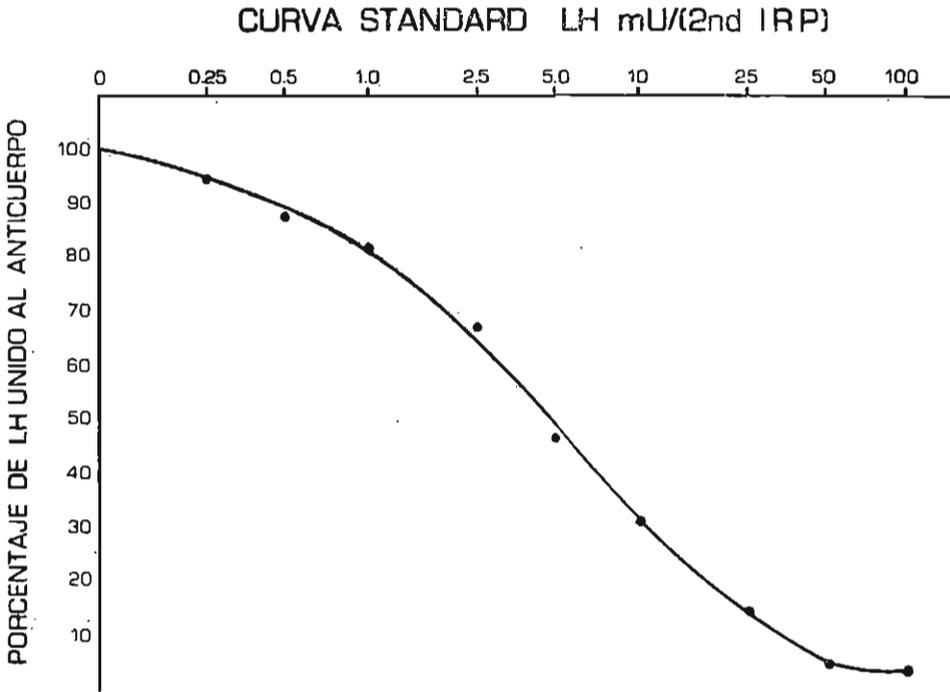
Los sueros problemas fueron aplicados por duplicado al medio de incubación en una cantidad de 0.2 ml. para un volumen final de 1.0 ml. en el buffer anteriormente mencionado, conteniendo además EDTA en una concentración 0.01 M.

La figura N° 1 ilustra las características de la curva standard obtenida bajo las condiciones anteriormente descritas.

El material humano estudiado comprende 20 mujeres normales de nivel del mar, con ciclos menstruales regulares, sin tratamiento hormonal alguno cuyas edades fluctuaron entre 20 a 34 años; 12 eran de probada fertilidad. En 6 de estas mujeres se había introducido un dispositivo intrauterino (asa de Lippes).

Las muestras de sangre fueron obtenidas en la mañana, diariamente entre el 10° y 20° días del ciclo y cada 2 a 3 días en otros momentos del mismo. En 8 mujeres el muestreo cotidiano duró toda la longitud del ciclo menstrual. Los sueros fueron guardados congelados a -22°C hasta el momento de su determinación.

Figura N° 1



RESULTADOS:

De las 20 mujeres estudiadas 2 no mostraron un ciclo bifásico con elevación de la LH en la mitad del mismo, se trataba de personas probadamente fértiles; en una tercera este fenómeno fue dudoso, por lo que no han sido consideradas para el cálculo de los promedios.

Detalles sobre las características de los ciclos menstruales de las mujeres estudiadas, se encuentran en el cuadro N° 1. Se puede apreciar que la longitud promedio del ciclo menstrual fue de 30 días y que el pico ovulatorio de LH se presentó alrededor del 17° día, con amplias variaciones desde el 11° hasta el 25° día. Por lo general el pico mesocíclico precedió 14 días a la siguiente menstruación. Las figuras 2, 3 y 4 muestran variaciones individuales de LH a lo largo del ciclo menstrual.

La figura N° 5 representa la concentración promedio de hormona luteinizante en el suero de las 17 mujeres que mostraron una elevación significativa de LH,

Con este objeto y como es convencional para estudios de esta naturaleza, se centró a todos los ciclos en el día del pico ovulatorio, denominándosele día "0" y a partir de este momento se señaló el número de días que precedían (—) o continuaban (+) a él. En la fase folicular o proliferativa la concentración de LH fue 8.93 ± 0.38 mU/ml (media \pm 1 E.S.M.). Desde dos días del pico ovulatorio se nota un incremento progresivo de LH (15.55 ± 2.76 y 31.77 ± 6.64 mU/ml). En el día "0" la LH subió a 79.97 ± 7.92 mU/ml; en los dos días subsiguientes decae a 25.10 ± 4.74 y 10.58 ± 1.89 mU/ml. La concentración de LH en la fase luteal o secretora fue de 7.43 ± 0.55 , significativamente menor que en la primera fase ($p = 0.025$). Ver el cuadro N° 2.

CUADRO N° 1

Sujeto	Edad	Duración del ciclo en días	Día de aparición del pico de LH	Duración de la fase luteal	Pico de LH mU/ml
1. M.J.	34	26	11°	14	52.5 (4.7) (*)
2. Y.V.	23	29	12°	18	100 (8.3)
3. C.V.	25	28	13°	15	105 (10.39)
4. Z.M.	30	28	14°	15	125 (10.0)
5. G.G.	33	30	15°	16	27 (4.0)
6. H.B.	23	26	15°	12	55 (6.33)
7. E.S.	25	29	16°	14	120 (13.3)
8. Y.H.	28	30	16°	15	72.5 (6.0)
9. C.C.	26	30	16°	15	40 (16.32)
10. M.C.	30	32	16°	17	65 (6.0)
11. J.G.	20	31	17°	14	120 (22.0)
12. F.T.	33	29	18°	12	130 (13.6)
13. N.S.	22	33	19°	15	57.5 (7.36)
14. C.V.	20	28	20°	8	65 (9.76)
15. G.L.	21	37	21°	16	85 (8.56)
16. I.L.	20	31	22°	10	95 (7.21)
17. E.M.	29	34	25°	9	45 (4.9)
Promedio	26	30	16.8	13.88	79.97 (9.34)

(*) Los números en paréntesis representan el índice de: la concentración de LH del pico mesocíclico/promedio de LH de la fase folicular.

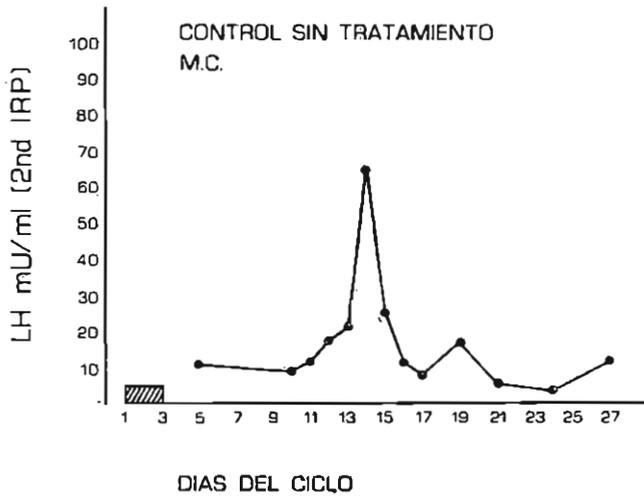
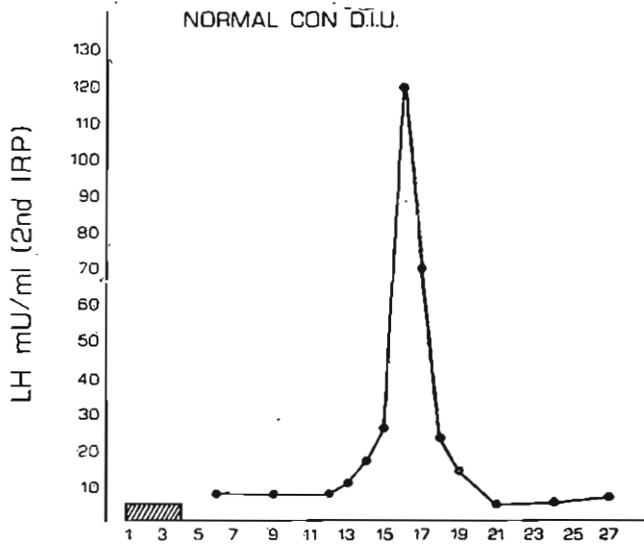
CUADRO N° 2

CONCENTRACION SANGUINEA DE LH DURANTE EL CICLO MENSTRUAL NORMAL (*)

	Fase folicular	Pico mesocíclico	Fase luteal
Promedio	8.93	79.97	7.43
Desviación Standard	4.07	32.62	5.41
Error Standard de la media	0.38	7.92	0.55

(*) mU/ml en términos del 2nd. IRP.

Figura N° 2



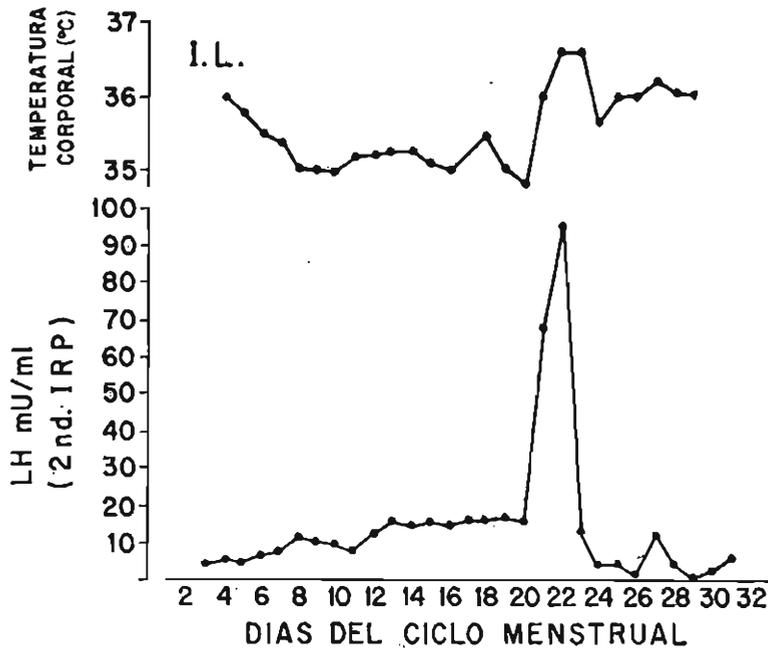
DISCUSION:

La determinación radioinmunológica de hormona luteinizante, una vez vencidos los obstáculos iniciales de su programación y aplicación, tiene considerables ventajas sobre los métodos biológicos y los inmunológicos, basados en reacciones visibles de precipitación o aglutinación, debido a su alta especificidad y a su mucho mayor sensibilidad.

La facilidad de poder utilizar pequeños volúmenes de suero, plasma u otro fluido orgánico, permite repetir su medición en la misma persona, mediante extracciones seriadas, que no significan mayor daño. Es así como podemos seguir las fluctuaciones de su concentración en sangre a lo largo de todo un ciclo menstrual o aún de varios, dado que es necesario sorprender el pico ovulatorio, cuya aparición durante el mismo es impredecible.

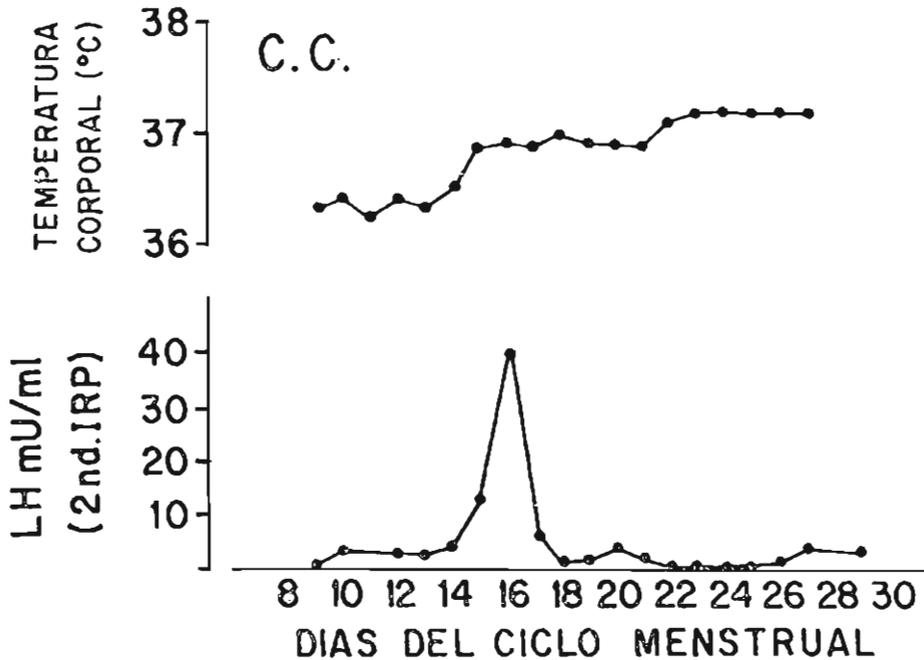
Nuestros hallazgos confirman una vez más que la mujer, independientemente de su raza, condición social o económica, normalmente muestran variaciones cíclicas de la producción de LH.

Figura N° 3



Durante la fase folicular del ciclo menstrual la concentración es significativamente mayor, que durante la fase luteal, esto ha sido comprobado tanto en sangre periférica (9) (15) (16) (17) como en sangre ovárica (14). Sin embargo la variación más notable ocurre en la mitad del ciclo, cuando se produce una elevación de corta duración, pero varias veces mayor que la concentración encontrada en la fase folicular o luteal, que con toda seguridad tiene una relación estrecha con la ovulación, a la cual aparentemente precede únicamente en pocas horas (18). De 20 mujeres con ciclos regulares, hemos hallado ciclos monofásicos en 2 y difícil de decidir en una tercera. Este fenómeno ha sido observado por Odell y col. (9) en 3 de 30 ciclos estudiados; Faiman y Ryan (10) encuentran en 1 de 12. La mayoría de autores señalan, que el pico mesocíclico de LH aparece entre el 11º al 22º días del ciclo menstrual, lo que concuerda con lo hallado por nosotros, con una excepción, en la que éste se observó en el 25º para un ciclo de 34 días, esta mujer y C. V. son las que mostraron una fase luteal cercana a la definición de "fase luteal corta", ambas mujeres eran de probada capacidad procreativa. Midgley y Jaffé

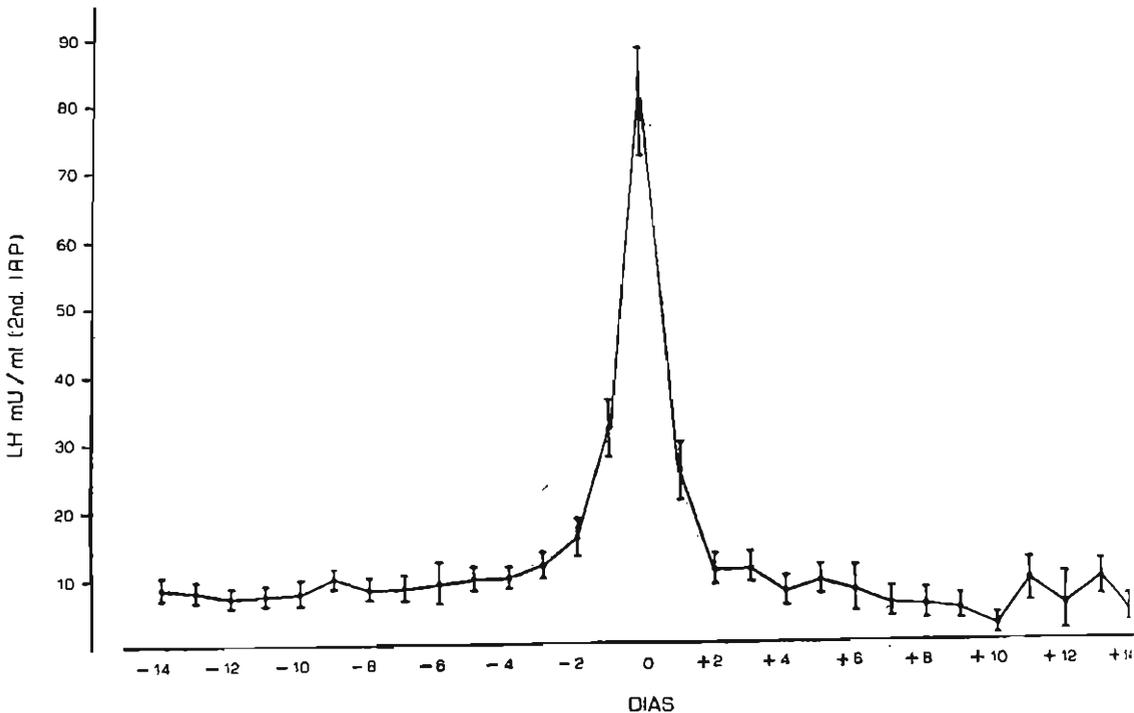
Figura N° 4



(17) han reportado que el pico de LH se presentó entre el 11° al 26° días en 37 mujeres con ciclos menstruales aparentemente normales, la duración de la fase luteal en ellas osciló entre 7 a 17 días.

Strott y col. (19) han definido a un ciclo menstrual de "fase luteal corta", a aquel cuya fase luteal dura 8 o menos días, contando desde el pico de LH a la siguiente menstruación. Un aspecto importante es el que se refiere a la magnitud del pico, especialmente en relación a los valores previos de la fase folicular. En nuestra serie la elevación mesocíclica significó un incremento entre 4.0 a 22.0 veces el valor de LH de la fase proliferativa, con un promedio de 9.34. Es necesario considerarlo para poder tener un patrón que norme la valoración de un ciclo como fisiológico o patológico, en segundo término para establecer el efecto anti-ovulatorio de drogas anticonceptivas y para comparar con los resultados de otros autores, dado que los valores absolutos de LH varían mucho de una serie a otra, no así las tendencias. Así nuestros valores de 8.93 y 7.43 mU/ml para las fases proliferativa y luteal del ciclo mens-

Figura N° 5



trual son más bajas que las descritas por la mayoría de autores (9) (10) (14) (16) y más cercanas a las publicadas por Midgley y Jaffé (17).

Estas diferencias en los valores absolutos no son mayormente trascendentales, como han sido acuciosamente examinadas por Taymor y Miyata (20); dependen del standard, el origen y tipo de LH utilizada para la marcación, características propias de cada suero anti-HCG y otros pequeños detalles de metodología, que no son iguales en cada caso. Lo importante es que las fluctuaciones de la concentración de LH en la sangre de las mujeres estudiadas sigan los mismos patrones, que los observados por otros grupos de investigación en este campo.

RESUMEN:

Se ha determinado la concentración de hormona luteinizante (LH) en el suero sanguíneo de 20 mujeres en edad reproductiva, con ciclos menstruales normales, sin tratamiento hormonal alguno, únicamente a 6 se había implantado un D. I. U. Con este objeto se empleó una técnica radioinmunológica.

En tres ciclos no se pudo demostrar una elevación significativa de LH en la mitad del mismo. En los 17 ciclos, considerados bifásicos, ovulatorios, se encontró una concentración mayor de LH en la fase folicular (8.93 mU/ml, expresados en unidades del 2nd. IRP-HMG) que en la fase luteal (7.43 mU/ml), $p = 0.025$. Para una duración promedio de 30 días, el pico ovulatorio de LH se presentó alrededor del 17º día del ciclo, con amplias variaciones entre el 11º y el 25º días. La fase luteal duró como término medio 14 días. La concentración promedio de LH del pico mesocíclico fue de 79.97 mU/ml, lo cual representó un incremento mayor de nueve veces la concentración de LH hallada durante la fase folicular.

SUMMARY:

Serum LH concentration was measured by a radioimmunoassay technique along the menstrual cycle of 20 normal women in reproductive age. They have not received any hormonal treatment, only six out of them had an IUD in situ. In 17 cycles, considered as biphasic, a significant midcycle rise of LH was observed. During follicular phase, LH (8.93 mU/ml, in terms of 2nd. IRP-HMG) was significantly higher than during luteal phase (7.43 mU/ml), $p = 0.025$. Midcycle peak appeared about the 17th day for a mean cycle duration of 30 days, although a wide variation between the 11th and 25th. days was observed. Luteal phase lasted 14 days. The mean concentration of the LH peak was 79.97 mU/ml. This represented more than a 9-fold increase of the follicular phase concentration.

BIBLIOGRAFIA

- 1.— BERSON S. A., YALOW R. S., BAUMAN A., ROTHSCHILD M. A. y NEWERLY, K.: *J. Clin. Invest.* 35: 170, 1956.
- 2.— WIDE L., ROOS P. y GEMZELL C.: *Acta endocr. (Kbh)* 37: 445, 1961.
- 3.— HARTREE A. S., BUTT W. R. y KIRKHAM K. E.: *J. Endocrinol.* 29: 61, 1964.
- 4.— PAUL W. E., y ODELL W. D.: *Nature (London)* 203: 979, 1964.
- 5.— WILDE C. E., ORR A. H. y BAGSHAW K. D.: *Nature (London)* 205: 191, 1965.
- 6.— MIDGLEY A. R. y RAM J. S.: *Fed. Proc.* 24: 162, 1965.
- 7.— BAGSHAW K. D., WILDE C. E. y ORR A. H.: *Lancet* 1: 1118, 1965.
- 8.— ODELL W. D., ROSE G. T. y RAYFORD P. L.: *Metabolism* 15: 287, 1966.
- 9.— ODELL W. D., ROSS G. T. y RAYFORD P. L.: *J. Clin. Invest.* 46: 248, 1967.
- 10.— FAJMAN CH. y RYAN R. J.: *J. Clin. Endocr.* 27: 1711, 1967.
- 11.— GARMENDIA F., LLERENA L. A. y KESSERU E.: *IV Jornadas Peruanas de Endocrinología, Resumen N° 22, Trujillo, Perú, 1971.*
- 12.— GARMENDIA F., KESSERU E. y LLERENA L. A.: *IV Jornadas Peruanas den Endocrinología, Resumen N° 23, Trujillo, Perú, 1971.*
- 13.— GREENWOOD F. C., HUNTER W. M. y CLOVER J. S.: *Biochem. J.* 89: 114, 1963.
- 14.— LLERENA L. A., GUEVARA A., LOVOTSKY J., LLOYD CH. W., WEISZ J., PUPKIN M., ZANARTU J. y PUGA J.: *J. Clin. Endocr.* 29: 1083, 1969.
- 15.— SCHALCH D. S., PARLOW A. F., BOON R. C. y REICHLIN S.: *J. Clin. Invest.* 47: 665, 1968.
- 16.— LLERENA L. A., y LLERENA A.: *Ginec. y Obst. (Lima)* 15: 241, 1969.
- 17.— MIDGLEY A. R. y JAFFE R. B.: *J. Clin. Endocr.* 28: 1699, 1968.
- 18.— YUSSMAN M. A. y TAYMOR M. L.: *J. Clin. Endocr.* 30: 396, 1970.
- 19.— STROTT CH. A., CARGILLE CH. M., ROSS G. T. y LIPSETT M. B.: *J. Clin. Endocr.* 30: 248, 1970.
- 20.— TAYMOR M. L. y MIYATA J.: *Karloinska Symposia en Research Methods in Reproductive Endocrinology. 1rst. Symposium: Inmunoassay of gonadotrophins. Ed. E. Diczfaluzny, Estocolmo, p. 324, 1969.*