

GONADOTROFINAS HIPOFISIARIAS SERICAS DURANTE EL CICLO MENSTRUAL, MEDIDAS POR RADIOINMUNOENSAYO

LUIS ALBERTO LLERENA Y AMELIA GUEVARA DE LLERENA (*)

El estudio de la inter-relación entre hormonas del hipotálamo, hipófisis y gonadas, además de su importancia científica tiene también importancia clínica práctica en el manejo de problemas de reproducción. Hasta hace algunos años la cuantificación de gonadotrofinas hipofisarias en líquidos biológicos estaba muy limitada, debido al gran volumen de sangre y otros fluidos requerido para una precisión aceptable. La adaptación del radioinmunoensayo en la determinación de gonadotrofinas, ha venido a facilitar grandemente su estudio. El radioinmunoensayo es mucho más sensible, preciso y aparentemente más específico que los métodos biológicos; además para la determinación sólo se requieren entre 0.1 - 0.2 ml. de suero o plasma, y es posible realizar simultáneamente la determinación de muchas muestras.

Presentamos en el presente trabajo los resultados en la determinación de hormona luteinizante (LH), y folículo estimulante (FSH), durante el ciclo menstrual normal. Estos estudios fueron realizados en la Fundación para Biología Experimental, Worcester, Shrewsbury, Massachusetts, y en la Universidad Western Reserve, Cleveland, Ohio, U.S.A.

MATERIAL Y METODOS

Para las determinaciones de LH se empleó el método de Odell y Col. (1). El antisuero contra LH, fue obtenido inmunizando conejos blancos, con una preparación comercial de HCG (APL, Laboratorios Ayerst), gracias a la reacción cruzada inmunológica que existe entre la hormona luteinizante y gonadotrofinas coriónicas. De doce animales inmunizados sólo uno rindió un antisuero aceptable para radioinmunoensayo. Este antisuero no presentó reacción cruzada significativa con FSH humano (LER-869-2), HGH (NIH-GH-HS-840-FA), ACTH (Lerner Nº 88) o con NIH-HTSH. Resultados obtenidos con el uso de este antisuero y con antisueros obtenidos del Instituto de Salud, Agencia para Hipófisis, U.S.A., así como antisueros contra HCG, donados por el Dr. W. D. Odell correlacionaron bien. La dilución empleada fue de 1/20,000.

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

LH humana altamente purificada (LER-822-2), obtenida de la Agencia Nacional de Hipófisis, fue iodinada con I^{125} (Isoservice, Cambridge, Mass.), por el método de Greenwood y Co. (2). Se usaron entre 0.5 y 0.15 ng. de la hormona marcada.

Para las determinaciones de FSH se empleó el método de Midgley (3). FSH humana altamente purificada (LER-869-2), donada por la Agencia Nacional de Hipófisis, fue iodinada con I^{131} , también por el método de Greenwood y Co. (2), y se emplearon entre 0.10 y 0.15 ng. de la hormona marcada, en las determinaciones.

Se obtuvo antisuero contra FSH humano, absorbido con HCG, de la Agencia Nacional de Hipófisis, U.S.A.; este antisuero fue usado a la dilución de trabajo de 1/6,000.

Para separar la hormona libre de la unida al antisuero, tanto en las determinaciones de LH como en los de FSH se usó la técnica del doble antisuero, empleando un exceso de anticuerpos contra gamma globulina de conejo (Antibodies Inc. Davis, California). Los resultados son expresados en millones de la Segunda Preparación de Referencia Internacional de Gonadotrofina Menopáusica Humana (2^a IRP-HMG), distribuida por el Consejo de Investigación Médica, Mill Hill, Londres; este Standard contiene ambas LH y FSH y sirve de referencia para las dos.

El método es sensitivo a 0.5 mu IRP-HMG-2 y su precisión es tal que su coeficiente de variación es menor de 10% para LH y de 13% para FSH corriéndose las muestras por duplicado en cada determinación.

Se estudiaron 15 ciclos en 12 mujeres normales cuyas edades oscilaron entre 23 y 35 años, y que tenían historia de ciclos menstruales normales. En 4 de las mujeres se tomaron muestras sanguíneas diarias a través del ciclo, y en las 8 restantes cada dos o tres días, al inicio y al final del ciclo y diariamente, durante seis días alrededor del tiempo esperado de ovulación, predicho por el día del cambio en la temperatura basal durante el ciclo menstrual previo. Se tomaron muestras diarias de sangre en una mujer que presentaba un claro síndrome menopáusico, y una sola muestra en cada una de 33 mujeres postmenopáusicas, cuyas edades fluctuaron entre los 38 y 68 años. Las muestras de sangre fueron obtenidas de vena antecubital sin ningún anticoagulante, entre las 8 y 9 de la mañana. En un grupo de cinco mujeres también se obtuvieron muestras a las cinco de la tarde. El suero fue separado por centrifugación y guardado congelado a 20°C, hasta su determinación. Todas las muestras correspondientes al ciclo de una mujer fueron determinadas en una mis-

ma oportunidad, para evitar error entre una y otra determinación; las determinaciones fueron realizadas por duplicado.

RESULTADOS

Ciclo normal.— Tabla N° 1 y Figura N° 1, resumen los hallazgos encontrados. En once de las doce mujeres se observó una gran elevación en los niveles de LH que ocurrió entre los días 12 y 21 del ciclo (Tabla N° 1), cuyos valores oscilaron entre 33.5 y 160 mui/ml. y cuya duración osciló entre 2 y 6 días. En una de las tres mujeres estudiadas durante dos ciclos, el pico de LH se repitió en el mismo día (sujeto N° 6).

TABLA N° 1
NIVELES SERICOS DE LH Y DE FSH DURANTE EL CICLO MENSTRUAL

| Sujeto | Duración del ciclo días | Día del pico de LH (Valor mui/ml) | Valor máximo de FSH mui/ml | Coincidencia del pico de FSH con el de LH |
|--------|-------------------------|-----------------------------------|----------------------------|---|
| 1 | 29 | 12 (100) | 31 | SI |
| 2 | 31 | 15 (90) | 39 | SI |
| 3 | 30 | 15 (72) | 16 | no pico de FSH |
| 4 | 29 | 12 (33.5) | 13 | no pico de FSH |
| 5 | 28 | 18 (115) | 22 | NO (un día después) |
| 6 | 30 | 18 (100) | | |
| | | 18 (120) | 44 | SI |
| 7 | 31 | 19 (107) | | |
| 8 | 30 | 14 (150) | 32 | SI |
| 9 | 25 | 15 (42.5) | 26.5 | SI |
| | 26 | 11 (160) | 32.0 | SI |
| 10 | 26 | 13 (102.5) | 26.5 | SI |
| 11 | 32 | 21 (43) | 13 | no pico de FSH |
| | | 14 (37) | 13 | no pico de FSH |

En siete mujeres también se observó un pico de FSH, que osciló entre 26.5 y 44.0 mui/ml., coincidiendo con el valor más alto de LH en seis y presentándose un día más tarde en una mujer. Una de las mujeres (N° 11), que fue estudiada en dos ciclos, presentó en ambos un pico en los valores de LH, sin embargo, no presentó elevación significativa de FSH en ningún día. Finalmente el caso N° 12, no mostró elevación significativa de LH ni de FSH; esta mujer presentó una curva de temperatura basal o corporal monofásica en este ciclo y probablemente no ovuló.

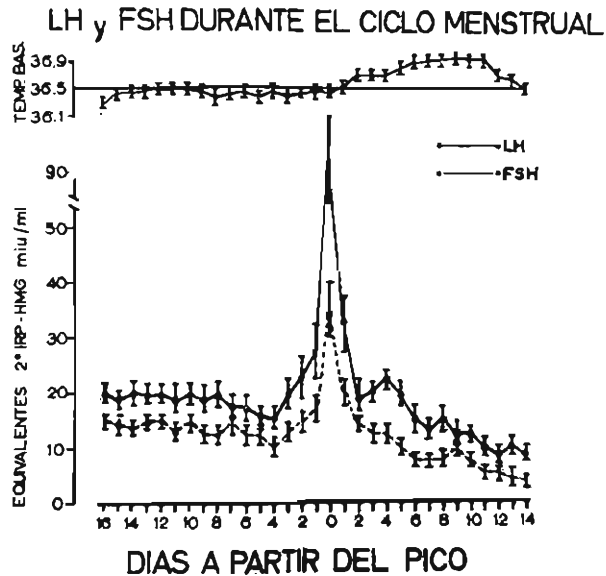


Figura 1.— Promedio y error standard de la temperatura basal corporal y niveles séricos de LH y FSH diarios, en 14 ciclos menstruales en 11 mujeres normales. El día cero corresponde al día del máximo nivel de gonadotropinas.

En la Figura Nº 1 se presentan los resultados, considerando el día de máximo valor de las gonadotropinas como el día cero; también se incluye la curva de la temperatura basal. Los valores tanto de LH como de FSH son mayores durante la fase folicular que en la fase lútea (Tabla Nº 2). La relación de FSH/LH tiende a acercarse a T (0.8) en los extremos del ciclo, disminuyendo marcadamente durante la máxima elevación del pico ovulatorio. La temperatura basal comienza a elevarse uno o dos días después del pico de las gonadotropinas y alcanza su máximo valor entre el cuarto y sexto día. La figura Nº 2 muestra un estudio de la variación diurna en gonadotropinas en cinco mujeres; los valores de FSH tienen tendencia a ser más bajos en la tarde, pero las diferencias probablemente no son significativas; no existen diferencias en los valores de LH obtenidos a las 8 a.m. y 5 p.m.

La Figura Nº 3 muestra los niveles diarios de LH encontrados en una mujer de 38 años que presentaba un síndrome menopáusico, los valores oscilaban entre 20 y 30 mIU/ml. con tres grandes picos en los días 16, 19 y 24. Las muestras sólo fueron tomadas hasta el día 26 y aún no se había presentado la siguiente menstruación. Los niveles de LH en las mujeres post-menopáusi-

cas oscilaron entre 30 y 180 mui, con un promedio de 94.8 ± 8.2 y los de FSH entre 30 y 150 mui/ml., con un promedio de 82.1 ± 7.4 mui-/ml., y la relación FSH/LH fue 0.86.

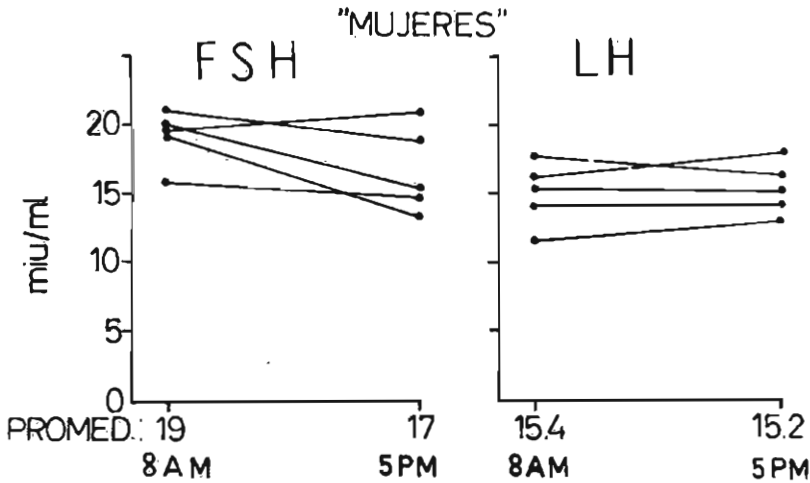


Figura 2.— Niveles séricos de LH y FSH en AM y PM.

TABLA N° 2

CONCENTRACIONES SANGUINEAS DE LH Y FSH OBTENIDAS PROMEDIANDO LOS VALORES DE VARIOS DIAS DURANTE EL CICLO MENSTRUAL, EN 11 MUJERES NORMALES

| | FSH \pm es | LH \pm es | FSH/LH |
|--|-----------------|-----------------|--------|
| mul 2 ^a IRP — HMG | | | |
| FASE FOLICULAR | | | |
| Días 1 al 8 | 16.3 ± 2.1 | 19.5 ± 3.2 | 0.83 |
| 2 a 4 días antes del pico ovulatorio | 16.7 ± 3.0 | 28.0 ± 5.2 | 0.59 |
| Día del Pico Ovulatorio | 31.6 ± 2.5 | 90.8 ± 10.9 | 0.35 |
| FASE LUTEINICA | | | |
| 2 a 4 días después del pico ovulatorio | 16.3 ± 1.39 | 21.5 ± 4.6 | 0.75 |
| 1 a 8 días antes de la menstruación | 7.7 ± 3.1 | 9.5 ± 3.5 | 0.81 |

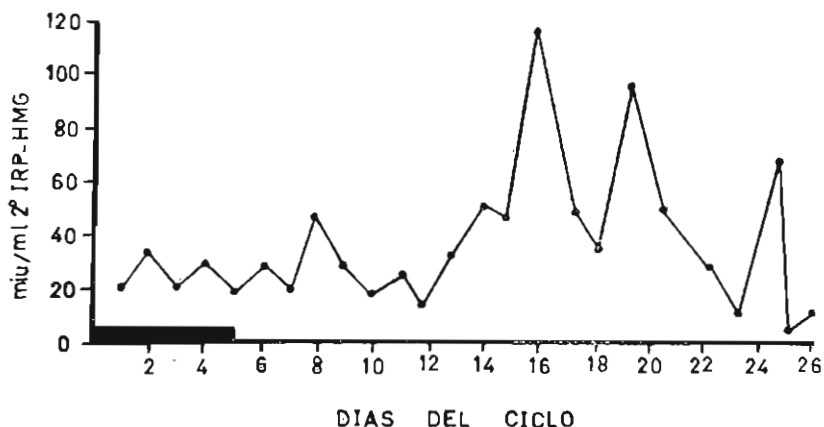


Figura 3.— Niveles séricos de LH durante un ciclo menstrual, en una paciente con síndrome menopáusic. La barra horizontal representa los días de menstruación.

DISCUSION

Nuestros resultados muestran una gran elevación en los niveles de gonadotropinas en suero, que ocurre en la mitad del ciclo menstrual. Esto está de acuerdo con lo encontrado por otros autores empleando también técnicas de radioinmunoensayo (1, 4, 5, 6, 7, 8). Previamente empleando laboriosas técnicas de biosajes de LH en plasma (9), así como en concentrados de orina (10) se había demostrado un incremento en la concentración plasmática y en la excreción urinaria de LH en la mitad del ciclo. Estos hallazgos fueron confirmados posteriormente (11, 12, 13). Aunque algunos investigadores han encontrado también una significativa elevación en los valores de FSH en plasma, al inicio del ciclo (14, 20), el hallazgo más constante es un pico que coincide con el de LH. Estas discrepancias se acentúan cuando se determina FSH en orina mediante bioensayos. Algunos han reportado elevada excreción urinaria en la mitad del ciclo (12, 13, 15), otros encuentran la mayor excreción al inicio y al final del ciclo (16), o al inicio del ciclo con disminución progresiva a medida que éste avanza (17).

Nuestros resultados confirman los hallazgos reportados primeramente por Odell y Col. (1) y confirmados por otros (8) de más altos niveles de gonadotropinas en suero o plasma en fase folicular. En un estudio previo nuestro (18) no pudo demostrarse diferencia significativa entre las concentraciones de LH y FSH en fase folicular y fase luteínica en plasma periférico, aunque las concentraciones de LH en plasma de vena ovárica fueron mayores en la fase folicular; en dicho estudio sólo se tomó una muestra aislada en cada mujer.

Recientemente Midgley y Jaffe (8) han encontrado menores valores de LH entre 12 y 2 p.m. e igualmente ligeramente disminuida en muestras tomadas entre las 4 y 7 p.m. y las 9-12 p.m., comparadas con los niveles encontrados en la mañana (7 a 9 a.m.). Nuestros resultados no muestran variación diurna, por lo menos para LH, y muy pequeña no significativa en algunas mujeres, para FSH. Determinaciones simultáneas de estradiol y estrona, en las mismas muestras (19), tampoco revelaron variación, pero un estudio más frecuente durante el día es necesario.

Las determinaciones de estrógenos en 8 de estas mujeres (19), revelaron un gran aumento en estradiol y estrona, coincidiendo o precediendo el pico de las gonadotropinas, habiendo luego otra elevación en la fase luteal. Similares resultados han sido encontrados empleando un método de radioinmunoensayo para estradiol en plasma por Abraham (21). Neil y Col. han demostrado que la progesterona sérica, medida por métodos de unión competitiva, se eleva después del pico de LH (22).

Finalmente ha sido demostrado que los niveles elevados de LH en mujeres postmenopáusicas, no se mantienen constantes, sino que son irregularmente oscilantes (23). Nuestro hallazgo de varios picos en los niveles de LH en suero en una mujer en edad menopáusica y con un claro síndrome climatérico, sugeriría que la elevación postmenopáusica de LH comienza en forma de picos.

Al presente la relación de los cambios de FSH y LH y el desarrollo del folículo ovárico, ovulación y formación del cuerpo lúteo no es bien conocida. De los resultados recogidos pueden formularse algunas especulaciones: El folículo comenzaría a desarrollarse por acción de bajos niveles séricos de ambas, LH y FSH. El hecho de que el pico de la concentración plasmática de estrógenos preceda al de las gonadotropinas (19, 21), indicaría que una cierta concentración crítica de estrógenos puede ser necesaria para inducir la liberación por la hipófisis del pico de gonadotropinas en la mitad del ciclo, el que a su vez desencadenaría la ovulación. Posteriormente el cuerpo lúteo comenzaría a producir progesterona y también estrógenos; sin requerir aparentemente altos niveles de LH o FSH. Los valores más bajos de gonadotropinas en la fase luteal podría ser explicada, como lo sugirieron Odell y Col. (5), por una acción inhibidora de la mezcla de estrógenos y progesterona sobre la hipófisis. Parecería que el cuerpo lúteo una vez formado funciona y regresa independientemente de las concentraciones sanguíneas de LH y FSH.

RESUMEN

Empleándose técnicas de radioinmunoensayo, se han determinado los niveles de LH Y FSH en suero a través del ciclo menstrual, en 15 ciclos de 12 mujeres normales en edad reproductiva (23 a 35 años de edad). Once mujeres presentaron una gran elevación en los niveles de LH en la mitad del ciclo (días 12 a 21). Seis de estas mujeres también presentaron elevación significativa en los niveles de FSH, coincidiendo con la de LH, y una mujer presentó una elevación de FSH un día después de la elevación en LH. El más alto nivel de LH alcanzado osciló entre 33.5 y 160 mui/ml. IRP-HMG-2 (promedio \pm es 90.8 \pm 10.9) y el de FSH osciló entre 26.5 y 44.0 mui/ml. (promedio \pm es 31.6 \pm 2.5).

Los niveles de LH y FSH durante la fase folicular (LH 19.5 \pm 3.2 y FSH 16.3 \pm 2.1), resultaron más elevados que en la fase lútea (LH 9.5 \pm 3.5 FSH 7.7 \pm 3.1).

La relación FSH/LH fue menor durante la fase ovulatoria (0.35) que durante los primeros (0.83) y últimos días (0.81) del ciclo.

SUMMARY

Serum concentrations of Luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) have been measured by radioimmunoassay throughout the menstrual cycle in 15 cycles of 12 normal women in reproductive age (23 to 35 years old).

Serum concentrations of LH rose sharply in the middle of the cycle (Between days 12 to 21) in eleven women; in six of them there was a significant increment in serum FSH at the same time and in another woman serum FSH rose one day later than LH.

The LH peak oscillated between 33.5 to 160.0 mui/ml (mean \pm se 90.8 \pm 10.9) and the FSH peak oscillated between 26.5 to 44.0 mui/ml (mean \pm se 31.6 \pm 2.5).

LH and FSH levels during follicular fase (LH 19.5 \pm 3.2 and FSH 16.3 \pm 2.1) were higher than during luteal fase (LH 9.5 \pm 3.5 and FSH 7.7 \pm 3.1). The FSH/LH ratio was lower during the ovulatory fase (0.35) than during the first (0.83) and last (0.81) days of the menstrual cycle.

REFERENCIAS

- 1.—ODELL, W. D., G. T. ROSS & P. L. RALFORD: J. Clin. Invest. 46: 248, 1967.
- 2.—GREENWOOD, F. C., W. M. HUNTER & J. S. GLOVEN: Biochem. J. 89: 114, 1963.
- 3.—MIDGLEY, A. R. JR.: J. Clin. Endocrin. 27: 295, 1967.
- 4.—FAYMAN, C. & RALMAN R. J.: Nature 215: 857, 1967.
- 5.—ODELL, W. D., A. F. PARLOW, C. M. CARGILLE & G. T. ROSS: J. Clin. Invest. 47: 2551, 1968.
- 6.—SAXENA, B. B., H. DEMURA, H. M. GANDY & R. PETERSON: J. Clin. Endocrin. 28: 519, 1968.
- 7.—SCHALCH, D. S., PARLOW, R. C. BOON & S. REICHLIN: J. Clin. Invest. 47: 665, 1968.
- 8.—MIDGLEY, A. R. & R. B. JAFFE: J. Clin. Endocrin. 28: 1699, 1968.
- 9.—LAUCHORT, J., J. TIUFFER & J. DE COURT: Acta Endocrinol. 99: 293, 1965.
- 10.—MC ARTHUR, J. W., J. WORCESTER & F.M. INGERSOL: J. Clin. Endocrin. 18: 1186, 1968.
- 11.—FUCUSHIMA, M., V. C. STEVENS, C. L. GANTT & N. VORYS: J. Clin. Endocrin. 24: 205, 1964.
- 12.—BECKER, K. L., & A. ALBERT: J. Clin. Endocrin. 25: 962, 1965.
- 13.—ROSEMBERG, E. & P. J. KELLER: J. Clin. Endocrin. 25: 1262, 1965.
- 14.—FAYMAN, C. & R. J. RYAN: J. Clin. Endocrin. 27: 1711, 1967.
- 15.—ROCCA, D. I., A. A. DAILY: Mayo Clin. Proc. 42: 536, 1967.
- 16.—STEVENS, V. C. & N. VORYS: Obstet. Gynec. Survey 22: 781, 1967.
- 17.—IGARASHI, M., J. KAMIOKA, Y. EJARA & S. MATSUMOTO: Fert. Steril. 18: 672, 1967.
- 18.—LLERENA, L. A., A. GUEVARA, J. LOBOSKY, C. W. LLOYD, J. WEISZ: J. Clin. Endocrin. 29: 1083, 1969.
- 19.—BAIRD, D. T. & A. GUEVARA: J. Clin. Endocrin. 29: 149, 1969.
- 20.—TAYMOR, M. I., T. AONO: Gonadotrophins 1968. pag. Edit. E. Rosemberg Ceron X, Inc. Box 1108, Los Altos California.
- 21.—ABRAHAM, G.: 51 Meeting of the Endocrine Society. N. Y. New York 1969. Abstract 170.
- 22.—NEIL, J. D., E. D. B. JOHANSSON, J. K. DATTA & E. KNOBIL: J. Clin. Endocrinol. 27: 1167, 1967.
- 23.—ABRAHAM, C. E.: Lancet 1: 1203, 1968.