

PRUEBAS QUE EVALUAN LA FUNCION HIPOFISARIA

Dr. PATRICIO LOPEZ—JARAMILLO y Dr. MARCELO NARVAEZ L.

Unidad de Radioinmunoensayo. Laboratorio de Investigaciones de Bioquímica, Facultad de Ciencias Médicas, Quito.

RESUMEN

Se discuten las diferentes determinaciones hormonales basales y las pruebas funcionales de estímulo o supresión de la secreción hormonal adenohipofisaria que actualmente se realizan en la Unidad de Radioinmunoensayo de la Facultad de Ciencias Médicas, y se revisa la utilidad clínica de estas dosificaciones en el diagnóstico de las enfermedades que interesan al sistema hipotálamo—adenohipofisario. (Revista de la Facultad de Ciencias Médicas (Quito), 10: 69, 1985).

Actualmente se reconoce al hipotálamo como un órgano endócrino que es capaz de sintetizar y secretar en el sistema vascular portal hipotálamo—hipofisario, pequeños péptidos con actividad biológica, algunos de los cuales regulan la función de la glándula hipofisaria anterior.

Las hormonas hipotalámicas pueden ser consideradas dentro de dos grupos: (1) hormonas hipotalámicas liberadoras y (2) hormonas hipotalámicas inhibitoras. Las primeras estimulan la síntesis y liberación de hormonas adenohipofisarias específicas, en cambio que las segundas inhiben esos procesos.

En la década pasada, se alcanzaron notables progresos en el desarrollo de técnicas bioquímicas que permitieron la purificación, determinación estructural y síntesis de algunas de las hormonas hipotalámicas, especialmente de la hormona liberadora de tirotrófina (TRH) un tripéptido (pGlu-His-Pro-NH₂), la hormona inhibitora de la liberación de hormona de crecimiento conocida también como somatostatina (H-Ala-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys-Cys-OH), y de la

hormona liberadora de gonadotrofinas (LH-RH), un decapeptido (pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) (24).

Estas hormonas peptídicas se encuentran en bajas concentraciones en sangre periférica, lo que dificulta grandemente su determinación por técnicas analíticas de uso común.

La hipófisis anterior secreta las siguientes hormonas: hormona de crecimiento (GH), las gonadotrofinas, hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH), la hormona estimuladora de la tiroides (TSH), la hormona adrenocorticotrofa (ACTH) y la prolactina (PRL). Otras hormonas proteicas también son secretadas, pero su papel fisiológico todavía no ha sido plenamente establecido, así por ejemplo, la hormona estimuladora de los melanocitos (MSH) y la lipotrofina.

Los mecanismos que controlan la secreción de las hormonas adenohipofisarias son relativamente independientes, y actualmente es reconocido que cada una de estas hormonas son secretadas por diferentes tipos de células adenohipofisarias, denominadas células

somatotróficas, lactotróficas, tirotrólicas, gonadotróficas y corticotróficas. La antigua clasificación de las células adenohipofisarias como de tipo basófilas, acidófilas y cromófilas está actualmente en desuso (4).

Los desórdenes endócrinos del sistema hipotálamo—adenohipofisario se manifiestan o por una disminuída producción de hormonas hipofisarias o por una sobreproducción de estas hormonas.

HIPOPITUITARISMO

Las deficiencias funcionales de la glándula adenohipofisaria generalmente causan una disminución en la producción de todas o de algunas de las hormonas hipofisarias. La deficiencia aislada de una sola hormona es rara, tanto en adultos cuanto en niños. En caso de presentarse, las formas más comunes de deficiencias aisladas son de GH y de gonadotrofinas.

La falla progresiva de hormonas hipofisarias usualmente se debe a una lesión adquirida, generalmente un tumor, y sigue con frecuencia un patrón de comportamiento en el que se observa primeramente una secreción disminuída de gonadotrofinas y GH y solamente en fases tardías de la enfermedad se presenta disminución de la producción de ACTH y TSH. Esta secuencia no es necesariamente obligatoria y pueden transcurrir algunos años entre la disminución de una y otra hormona (8).

La asociación con deficiencia de hormonas de la neurohipófisis es rara, ya que tanto la ocitocina como la hormona antidiurética son sintetizadas y secretadas por el hipotálamo y solamente son almacenadas en la hipófisis.

Las causas más comunes de hipopituitarismo son debidas a: (1) destrucción de la glándula por tumor primario de la hipófisis, tumor hipotalámico, o por metástasis (usualmente de carcinoma de mama) en la hipófisis, hipotálamo o tejidos adyacentes a la hipófisis; (2) infarto de la glándula, más comunmente luego del parto (Síndrome de Sheehan), o más raramente por otros accidentes vasculares; (3) infiltración

y lesiones granulomatosas debido a sarcoidosis, histiocitosis X, hemocromatosis; (4) traumatismo cráneo—encefálico con o sin fractura de cráneo, que generalmente puede causar diabetes insípida, pero que en algunos casos puede cursar con hipofunción adenohipofisaria; (5) infecciones tipo tuberculosis, sífilis, absesos piógenos; (6) cirugía e irradiación; (7) deficiencia aislada de una hormona hipotalámica o hipofisaria causadas por errores congénitos (22).

MANIFESTACIONES CLINICAS

Las manifestaciones clínicas del hipopituitarismo dependen de la edad y sexo del paciente, y de la progresión de la lesión. A continuación, puntualizamos las más características:

Deficiencia de gonadotrofinas

En mujeres en edad reproductiva, los síntomas básicos son amenorrea y pérdida de pelo pubiano; en el hombre, impotencia y atrofia testicular; en niños de ambos sexos, ausencia o retraso de pubertad.

Deficiencia de GH

En adultos no hay manifestaciones clínicas de importancia; en niños causa enanismo.

Prolactina

Su deficiencia es rara y ocurre eventualmente en el Síndrome de Sheehan. Las hiperprolactinemias son más frecuentemente encontradas en tumores secretores de prolactina y en enfermedad hipotalámica, casos en los que la secreción de PRL no está bajo control hipotalámico. Las hiperprolactinemias, en la mujer, están asociadas con galactorrea y amenorrea y en el hombre con pérdida de la libido.

Deficiencia de TSH

Una deficiencia en TSH causa hipotiroidismo secundario en adultos y retardo de creci-

miento y mental en niños. Sin embargo, el hipotiroidismo secundario como causa de hipotiroidismo congénito es raro.

Deficiencia de ACTH

El déficit aislado de ACTH es extraordinariamente raro y se asocia generalmente con alcoholismo crónico en adultos. En general, la deficiencia adrenocortical secundaria puede ser distinguida de la primaria por la falta de pigmentación oscura de la piel y por un adecuada secreción de aldosterona. En los pacientes con deficiencia de ACTH, la hiponatremia que acompaña el cuadro es causada por una excesiva retención de agua debido a deficiente producción de cortisol y no por causa de una pérdida excesiva de sodio por la orina, lo que sí ocurre en la Enfermedad de Addison.

INVESTIGACIONES BIOQUIMICAS EN PACIENTES CON SOSPECHA DE HIPOFISITARISMO

A continuación enumeraremos las investigaciones endócrinas más comunes para valorar la función adenohipofisaria:

1. Determinación de los niveles plasmáticos de las hormonas producidas por las células blanco finales. Ejemplo: hormonas tiroideas, cortisol, testosterona, etc.
2. Determinación de las concentraciones basales de las hormonas hipofisarias en el suero: LH, FSH, TSH, PRL, GH y ACTH.
3. Manipulaciones farmacodinámicas para determinar la integridad funcional y la capacidad de reserva de varios de los ejes hipotálamo-hipofisarios. Las pruebas dinámicas generalmente utilizadas son las siguientes:
 - a) Test de tolerancia a la insulina (I.T.T.), que nos sirve para averiguar la integridad y capacidad funcional de los ejes de la GH, ACTH y PRL.
 - b) Administración de hormonas liberadoras hipotalámicas sintéticas para investigar la respuesta hipofisaria.

Las pruebas comunmente utilizadas son la de TRH para estimular la secreción de TSH y PRL y la de LH-RH para estimular la secreción de LH y FSH.

Estas pruebas pueden ser utilizadas separadamente, pero la demostración que el empleo simultáneo de estos tres estímulos no produce interferencias significativas, ha permitido que el estímulo pueda ser dado al mismo tiempo o secuencialmente. La realización de esta prueba combinada, conocida como "macrotest", en una sola sesión, nos permite un ahorro de tiempo y esfuerzo tanto del equipo médico como del paciente, y nos proporciona la máxima cantidad de información útil para ayuda diagnóstica (5,23).

4. Respuesta de las células blanco al estímulo de hormonas hipofisarias, por ejemplo, la administración de gonadotropina coriónica humana (hCG) para evaluar la función testicular y ACTH para evaluar la función adrenocortical.
5. Tests misceláneos, entre los que se destacamos: a) test del clomifeno, que en personas normales estimula la secreción de LH, FSH y esteroides gonadales; b) test de infusión de arginina para GH; c) test de la L-Dopa para GH; d) test de la metirapona para evaluar el eje hipotálamo-hipofisis-adrenal.

SELECCION DE LAS PRUEBAS ENDOCRINAS

La selección de las diferentes pruebas depende fundamentalmente de la naturaleza del problema clínico y del sexo y edad del paciente. En nuestro medio es importante destacar también la influencia de factores económicos y técnicos.

Haremos algunas consideraciones generales para la elección de determinados tests en ciertos grupos de pacientes, enfatizando que la selección final de las pruebas depende del criterio clínico, que es particular para cada paciente.

Pacientes prepúberes y púberes

La investigación endócrina adenohipofisaria usualmente contempla la medición de los niveles basales de algunas hormonas como cortisol, testosterona, gonadotrofinas y TSH. En niños, los test de screening relativamente simples como el test de estímulo con ejercicio, pueden ser útiles para una valoración preliminar de la respuesta de GH (11). Cuando se sospeche de un hipopituitarismo, el test de estímulo secuencial o macrotest es útil para establecer o refutar la hipótesis diagnóstica.

Niveles hormonales basales normales y una adecuada respuesta al macrotest excluyen lesiones hipotálamo-hipofisarias. Respuestas ausentes o groseramente inadecuadas de GH, TSH y cortisol, establece el diagnóstico de desórdenes hipotálamo-hipofisarios.

La ausencia o disminución de respuesta de las gonadotrofinas es de poca significación diagnóstica, ya que en pacientes prepuberales o con pubertad retardada, este tipo de respuesta es observada con mucha frecuencia.

La ausencia de respuesta, o una pobre respuesta de GH, sólo puede ser confirmada si persiste ante la realización de por lo menos otro de los test de estímulo, con arginina y L-Dopa. Si la respuesta en ambas pruebas es pobre o ausente, el diagnóstico de deficiencia de GH puede ser establecido (13). La deficiencia de GH, entretanto, puede ser una manifestación temprana de enfermedad hipotálamo-hipofisaria o una deficiencia aislada de GH.

Mujeres en etapa reproductiva

Cuando hay sospecha de hipopituitarismo, la determinación de niveles hormonales basales puede ser seguida por la realización del macrotest. Estas pruebas pueden darnos una serie de informaciones útiles para distinguir entre algunas causas de amenorrea hipotalámica e hipofisaria.

Hombres adultos

Igualmente, la determinación de los niveles hormonales basales, seguidas por la realización de un macrotest son de gran utilidad. Pruebas adicionales como la prueba de estimulación prolongada con hCG pueden ser necesarias. Así, cuando encontramos niveles basales disminuídos de LH, FSH y testosterona, pero con un aumento satisfactorio en las concentraciones de testosterona, luego de las inyecciones de hCG, sugieren fuertemente un desorden del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal. Si junto con esto hay una respuesta ausente o disminuída de GH, LH y FSH al macrotest, el diagnóstico de hipopituitarismo puede ser establecido.

Mujeres post-menopáusicas

En estas pacientes, la determinación de los niveles hormonales basales, especialmente de FSH, LH y testosterona, son de utilidad. Concentraciones normales de testosterona prácticamente excluyen el diagnóstico de hipopituitarismo, por otro lado, niveles basales bajos de LH, FSH y testosterona sugieren fuertemente el diagnóstico de hipopituitarismo. Para confirmar el diagnóstico y para evaluar los otros ejes, la prueba de ITT puede ser realizada. Si el test con insulina es contraindicado, otras pruebas menos estresantes pueden ser utilizadas, estos incluyen las pruebas de infusión de arginina y L-Dopa para GH; TRH para el eje hipotálamo-hipófisis tiroideas, el test corto de ACTH y el test de la metirapona para la respuesta adrenocortical y la integridad del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal.

Hombres ancianos

En pacientes edosos o en aquellos en que el ITT está contraindicado, la determinación inicial de los niveles basales de hormonas hipofisarias y testosterona debe ser realizada, si encontramos niveles basales bajos de LH,

FSH y testosterona, pero un aumento satisfactorio de testosterona luego de la administración de hCG, podemos sospechar problemas hipotálamo-hipofisarios. La investigación de los otros ejes debe ser realizada con pruebas que producen menor estrés y que fueron anteriormente mencionadas.

Toma de sangre para dosificación de los niveles hormonales basales.

Se extrae de 15 a 20 ml de sangre venosa en la mañana (8 a 10 horas) con el paciente en ayuno de 12 horas. No es necesaria ninguna preparación especial del paciente. En lo posible, el paciente debe estar tranquilo. Una falla en la primera toma de sangre puede aumentar los niveles de PRL, GH y cortisol. Jeringillas de plástico o vidrio pueden ser utilizadas. La muestra es transferida a un tubo de ensayo limpio. Es necesario recordar que numerosas drogas pueden interferir con varios ensayos hormonales, especialmente con la concentración de PRL, por lo que es necesario investigar la ingestión de drogas por parte del paciente.

EL MACROTEST

Este test realizado en forma combinada o secuencial envuelve la administración de insulina junto con TRH y LH-RH, en forma de bolos intravenosos (IV) sucesivos, esto para el caso de la forma combinada; en caso de la forma secuencial, primeramente se inyecta la insulina, se realiza la prueba, y posteriormente se inyecta una combinación de TRH y LH-RH.

Precauciones y contraindicaciones

El test es potencialmente peligroso, por lo que tiene que ser realizado bajo supervisión médica permanente y con todas las precauciones necesarias. Hay contraindicación formal en caso de pacientes con enfermedades cardíacas isquémicas y epilepsia.

El hecho de que existen variaciones durante el día en la respuesta de varias hormonas a la hipoglucemia insulínica obliga a estandarizar la realización de la prueba en la mañana.

Es necesario mantener una vía intravenosa permeable, en caso sea necesario la administración de glucosa. El cálculo de la dosis IV de insulina debe ser correctamente realizada especialmente en caso de niños. Si el hipopituitarismo es fuertemente sospechado, debe usarse solamente dos tercios de la dosis normal.

Material necesario

- Cánula intravenosa No. 19
- Insulina soluble (20 UI/ml). Una dosis de 0.15 UI por Kg de peso corporal es comúnmente utilizada. Si el hipopituitarismo es altamente probable, la dosis debe reducirse a 0.10 UI/Kg.
- Solución de glucosa al 50 o/o para administración I.V.
- TRH y LH-RH. La dosis de estas hormonas hipotalámicas varía en diferentes centros. En U.S.A. utilizan una dosis de 500 ug para TRH y 100 ug para LH-RH. En España utilizan 300 ug de TRH y 100 de LH-RH (15). En el Servicio de Endocrinología del Hospital de Clínicas de la Facultad de Medicina de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo, se trabaja con una dosis de 200 ug de TRH y 100 ug de LH-RH diluidos en 50 ml de suero fisiológico estéril.
- Tubos con fluoride para la determinación de la glucosa sanguínea.
- Tubos vacíos limpios para la determinación de las hormonas hipofisarias y cortisol.

Procedimiento

- 1) La prueba puede ser realizada con el paciente ambulatorio, luego de un ayuno nocturno de 12 horas.
- 2) Estandarizar la realización de la prueba a

- partir de las 8 horas de la mañana. No deben administrarse alimentos o bebidas durante la prueba, excepto agua pura.
- 3) Pesar al paciente y calcular la dosis I.V. de insulina.
 - 4) Con el paciente en decúbito, insertar la cánula intravenosa y mantenerla permeable mediante el goteo lento de solución salina isotónica.
 - 5) Después de 30 minutos de reposo, se toman 20 ml de sangre (-15 o basal 1), transfiriendo 1ml al tubo con fluoride, y el resto en 2 tubos limpios para la determinación de los niveles de las hormonas hipofisarias (GH, PRL, LH, FSH, TSH) y cortisol. Marcar el tiempo y la fecha. Almacenar a 4°C.
 - 6) Luego de 15 minutos, tomar otros 20 ml de sangre (0 o basal 2) y proceder de igual manera.
 - 7) Inyección I.V. en bolo y desde jeringillas diferentes, de insulina, TRH y LH-RH.
 - 8) Tomas posteriores de 20 ml de sangre a los +60, +90 y +120 minutos luego de la administración de las hormonas.

Para que los resultados sean valorables debe obtenerse un descenso de la glucosa por debajo de 40 mg/100 ml o al menos, una disminución hasta el 50 o/o de los valores basales. Esto usualmente ocurre entre 30 y 45 minutos después de la inyección de insulina, y el paciente presenta ligera sudoración que dura de 10 a 15 minutos. Los niveles de glucosa se pueden determinar inmediatamente, empleando tiras de papel reactivo tipo dextrostix. Si los síntomas de hipoglicemia no aparecen, se puede repetir la dosis de insulina y continuar tomando las muestras. Si aparecen síntomas de neuroglucopenia en cualquier momento de la realización de la prueba, ésta debe ser interrumpida y administrada la glucosa por vía I.V. Al final de la prueba administramos 20 ml de glucosa al 50 o/o I.V. y una comida rica en carbohidratos.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Los valores de las concentraciones hor-

monales considerados normales, tanto para las determinaciones basales cuanto para las lecturas post-estímulo, no han sido padronizadas universalmente y varían en diferentes centros de acuerdo a si el Radioinmunoensayo (RIA) es de marcación autóctona, a la fuente de los anticuerpos o a si se utilizan "kits". Por otro lado, cada laboratorio debe establecer un rígido control de calidad del RIA con una cabal determinación de la variación intra-ensayo e inter-ensayo.

Por todas estas razones, actualmente se estila que cada centro tenga sus propios valores de normalidad.

Las cifras que mencionaremos a continuación son las consideradas como normales en el Servicio de Endocrinología y en el Servicio de Medicina Nuclear del Hospital de Clínicas de la Facultad de Medicina de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo, y en la Unidad de RIA de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Central del Ecuador.

1. Resultados de GH

En niños y adultos normales de ambos sexos, las lecturas basales de GH son usualmente menores que 5 mU/ml y aumentan marcadamente después de la administración de insulina. El hallazgo de una lectura de GH mayor que 10 mU/ml es considerada como una respuesta adecuada.

En pacientes con una lesión hipotálamo-hipofisaria, los niveles de GH no aumentan luego de la administración de insulina, permaneciendo las lecturas por bajo los 5 mU/ml. Una pobre respuesta, con aumentos a cifras menores de 10 mU/ml puede indicar una etapa temprana de enfermedad hipotálamo-hipofisaria, pero esto también puede ocurrir en aproximadamente el 10 o/o de los individuos normales.

Si una respuesta inadecuada en la secreción de GH es la única anomalía en el macrotest, la deficiencia de GH debe ser confirmada por una respuesta igualmente inadecuada a otras pruebas de estímulo (L-Dopa, infusión de arginina) (7). En niños puede tratarse de una

deficiencia aislada de GH, en cambio que en adultos puede ser una manifestación temprana de enfermedad hipotálamo-hipofisaria. Destacamos que una respuesta inadecuada de GH puede también observarse en pacientes con hipotiroidismo primario.

2. Resultados de TSH

La valoración del eje hipotálamo-hipófisis-tiroides es generalmente realizada por la determinación de los niveles de las hormonas tiroideas, T₄, T₃, RT₃ e índice de tiroxina libre (FTI), la concentración basal de TSH y muy raramente por la respuesta de TSH al estímulo con TRH.

En adultos y niños con una lesión hipotálamo-hipofisaria, los valores de T₄, T₃ y FTI pueden ser bajos o normales; las lecturas de TSH pueden también ser bajas o normales. Sin embargo, en algunos raros casos, TSH puede estar aumentada debido a la producción hipofisaria de un tipo de TSH que es biológicamente inactiva, pero inmunológicamente activa, y por lo tanto, sensible a RIA.

El diagnóstico diferencial con hipotiroidismo primario se basa en que, en este último caso, los valores de TSH están marcadamente elevados. En adultos normales la administración de TRH resulta en un aumento de TSH, cuyos valores basales son de 0 a 6 mU/ml, y deben duplicarse o triplicarse a los 15 o 30 minutos para volver a descender a los 60 minutos (26). En aquellos casos en que no se observa un aumento adecuado de TSH, debemos pensar en un déficit hipofisario. Si los valores de aumento máximo aparecen a partir de los 60 minutos, podemos pensar en un hipotiroidismo hipotálamico (20). Puede realizarse también la prueba de estimulación con TSH.

3. Resultados de ACTH y/o Cortisol

Los valores basales de ACTH oscilan entre 20 y 100 pg/ml, con un incremento máximo a los 45 minutos, que por lo menos es 2.5 veces superior al valor basal. En situacio-

nes de stress, los valores basales de GH y ACTH pueden estar elevados sin que aparezca posterior respuesta al estímulo, en estos casos la elevación basal ya demuestra una adecuada reserva hipofisaria.

La determinación de cortisol por el método fluorométrico, incluye además la corticosterona y la aldosterona, pero el único compuesto de importancia real, cuantitativamente, es el cortisol por lo que su medida es equivalente al cortisol plasmático. En las personas normales, los valores de cortisol a las 9 de la mañana, según este método, están comprendidas entre 5 y 26 ug/100ml, y la hipoglicemia insulínica produce una elevación de al menos el 100 o/o en los niveles de cortisol. Sin embargo, una respuesta normal no excluye un desorden hipotálamo-hipofisaria, y puede ser visto en las etapas tempranas de la enfermedad, dependiendo del tamaño y progresión de la lesión.

La determinación de cortisol por RIA es un método más específico, y los valores normales en nuestro laboratorio, a las 9 de la mañana, son de 4 a 14 mU/ml, y un incremento mayor de 10 mU/ml es considerado como positivo en la prueba del I.T.T.

En pacientes con una enfermedad hipotálamo-hipofisaria, la respuesta del cortisol puede estar disminuída o ausente. En asociación con otras deficiencias de hormonas hipofisarias, el diagnóstico de deficiencia hipofisaria es confirmado, sin necesidad de futuras investigaciones bioquímicas.

De otro lado, si el hallazgo de bajos niveles de cortisol que no aumentan al estímulo es la única anomalía encontrada en el macrotest debe sospecharse de insuficiencia adrenocortical, más frecuentemente de tipo primario que secundario, y entonces es necesario la realización de otras pruebas para confirmar el hallazgo y la probable etiología. Estas pruebas incluyen el test corto de ACTH, el test de metirapona y la medición plasmática de ACTH.

4. Resultados de Prolactina.

En la interpretación de los resultados de

PRL debe darse una especial atención al uso de drogas y condiciones no patológicas que pueden alterar el nivel de la hormona. Enumeramos algunos de los fármacos de uso común que alteran los niveles de PRL (28):

Metoclopramida	α metil dopa
Clorpromacina	Cimetidina
Tioridazina	Inhibidores de la MAO
Clordiazapóxido	Anticonceptivos orales
Reserpina	Estrógenos
Imipramina	Sulpiride
Haloperidol	

Otras causas de hiperprolactinemia son la insuficiencia renal y el hipotiroidismo primario.

Existe una variación circadiana de los niveles de PRL, con los más altos valores durante el sueño (21). El período de menor variación es entre las 9 y las 14 horas. Los estrógenos causan niveles más altos en las mujeres durante su vida reproductiva y los valores son mayores durante la fase ovulatoria y lútea del ciclo menstrual (2). En niños de ambos sexos los niveles son uniformemente bajos.

Los valores basales de PRL oscilan entre 10 y 30 mU/ml en el hombre y de 10 a 40 mU/ml en la mujer, alcanzando un aumento de hasta el 100 o/o por estímulo con el macrotest a los 30 minutos. En pacientes con desórdenes hipotálamo-hipofisarios, los niveles basales de PRL pueden estar dentro del rango normal o anormalmente aumentadas, dependiendo del tipo, localización y progresión de la lesión. Niveles basales altos pueden ser debidos a tumor hipofisario, daño hipotalámico o disrupción de la circulación portal hipotálamo-hipofisaria. La respuesta de PRL a estimulación por TRH puede ser también variable. Así, en mujeres con disfunción hipotalámica, los niveles basales de PRL están usualmente dentro del rango normal y con una respuesta aumentada al ITT, y una respuesta normal luego de la administración de TRH (3).

En mujeres con lesiones hipofisarias no neoplásicas, como en el Síndrome de Sheehan, no se observa el aumento de PRL luego del ITT y tienen una respuesta variable al test de

estímulo con TRH.

En hombres con ginecomastia, con o sin galactorrea, se encuentran niveles aumentados de PRL. Entretanto, lecturas elevadas de PRL pueden ser asintomáticas en numerosos casos.

5. Resultados de LH y FSH

Los valores basales normales para mujeres en la fase folicular es de 10 a 40 mU/ml de LH y de 15 a 30 mU/ml de FSH. En el hombre, los valores basales son de 15 a 27 mU/ml para LH y de 5 a 20 mU/ml para FSH. Luego del macrotest, LH alcanza una elevación máxima a los 30 minutos, con cifras al menos dos veces superiores a los valores basales. La respuesta de FSH es menos intensa y escasamente significativa (29).

La evaluación del eje hipotálamo-hipofisis-gonadal contempla los siguientes parámetros:

- a) Determinaciones basales de esteroides gonadales: testosterona en hombres y en mujeres post-menopáusicas, estradiol sérico en mujeres durante la vida reproductiva.
- b) Niveles basales de LH y FSH, tomando en consideración que estas hormonas son secretadas en forma pulsátil y que es necesaria la realización de más de una dosificación (18). Nosotros realizamos las colectas de sangre cada 30 minutos durante 2 horas (4 tomas) y hacemos un "pool" donde se determinan los niveles basales de LH y FSH.
- c) Respuesta de LH y FSH a LH-RH. En hombres con insuficiencia hipofisaria, los niveles de testosterona son bajos y los valores de LH y FSH son bajos o normales. La respuesta a LH-RH puede ser disminuída o normal.

Otras pruebas de utilidad son las de estimulación con hCG y clomifeno. En pacientes con insuficiencia hipofisaria, la administración prolongada de clomifeno causa poco o ningún

aumento en los niveles de LH y/o testosterona sérica. La administración prolongada de hCG, en cambio, causa un progresivo y específico aumento en los niveles séricos de testosterona.

En mujeres con desórdenes hipotálamo-hipofisarios, durante la vida reproductiva, los niveles basales de LH, FSH y estradiol están usualmente dentro del rango normal para la fase folicular. Estas cifras normales, así como el sangrado luego de la administración de progesterona, no excluyen lesiones hipotálamo-hipofisarias. Una gran disminución de los niveles hormonales ocurre solamente cuando la lesión es severa. La respuesta a LH-RH puede estar disminuída o ser normal (14).

En mujeres post-menopáusicas, los niveles de gonadotrofinas son normalmente altos. Un hallazgo de gonadotrofinas altas prácticamente descarta el diagnóstico de deficiencia hipofisaria. Sin embargo, valores reducidos cuando comparados a los niveles de mujeres post-menopáusicas normales no significa necesariamente deficiencia hipofisaria, especialmente en mujeres con más de 70 años de edad, ya que normalmente los niveles de las gonadotrofinas tiende a declinar con la edad, y en algunos casos, los valores vuelven a ser los de mujeres pre-menopáusicas.

Recientes mediciones de testosterona sérica en mujeres edosas post-menopáusicas ha demostrado que en pacientes con insuficiencia hipofisaria, los niveles de testosterona son muy bajos con concentraciones menores de 200 ng/100ml comparado con valores de 600 ng/100ml que se observa en pacientes edosas post-menopáusicas sin hipopituitarismo.

En los niños de ambos sexos, tanto los niveles de gonadotrofinas cuanto de esteroides gonadales son bajos. La respuesta a LH-RH depende de la edad del niño y de la fase de pubertad. Normalmente en niños prepúberes el aumento de FSH es mayor que el de LH, y a medida que avanza la fase de pubertad el incremento de LH es más marcado. La respuesta a clomifeno es ausente en niños prepúberes.

PRUEBA DE ESTIMULACION CON CLOMIFENO

El clomifeno es un compuesto sintético no esteroide que se liga a los receptores esteroideos hipotalámicos y bloquea el control de retroalimentación negativa de los esteroides gonadales, testosterona y estradiol. Biológicamente el clomifeno es un estrógeno débil. Su acción en el hipotálamo es antiestrogénica. El bloqueo del control de retroalimentación negativa causa la liberación de las gonadotrofinas hipofisarias, LH y FSH, de tal manera que sus niveles en sangre permanecen elevados por algunos días luego de la suspensión de la administración del clomifeno.

Ya que para una adecuada respuesta al clomifeno se necesita de que la unidad hipotálamo-hipofisaria esté funcionando adecuadamente, la droga ha sido utilizada para establecer el diagnóstico de deficiencia aislada de gonadotrofinas, y para la investigación de pubertad retardada, hipogonadismo y en mujeres con amenorrea. Si la respuesta en estas mujeres es adecuada, la droga puede ser utilizada posteriormente para inducir la ovulación (17).

Procedimiento en el hombre

Administración de 100 mg de clomifeno/día via oral, con 4 tomas diarias de 1 comprimido de 25 mg a las 8, 14, 19 y 24 horas, durante 5 días consecutivos, con tomas de muestras en el día 1, antes de iniciar el tratamiento con clomifeno (basal) y en el primero y segundo día después de terminar la ingestión de clomifeno.

Procedimiento en la mujer

Se administra 100 mg diarios de clomifeno vía oral, divididas en 4 dosis durante 5 días, con tomas de sangre en el día 1 (basales), en el día 6, después de terminar la ingestión de clomifeno y en el día 19 para determinación de las concentraciones de LH, FSH y progesterona. El inicio de la prueba generalmente se realiza a partir del 3o. día del ciclo menstrual.

Interpretación de los resultados

En el hombre adulto normal los niveles séricos de testosterona, LH y FSH experimentan un definitivo aumento (29). La testosterona post clomifeno alcanza concentraciones al menos 50 % mayores que los basales, LH aumenta por lo menos 75 % y FSH por lo menos 50 % (10). Por lo general, el mejor parámetro para evaluar la respuesta al clomifeno es LH. En pacientes prepúberes no se observa ninguna respuesta. Una respuesta definitiva sugiere maduración del eje hipotálamo-hipofisario y está usualmente presente después de la 39 fase puberal de Tanner (19).

La prueba es de valor para evaluar pacientes con pubertad retrasada. Una respuesta positiva a la administración de clomifeno confirma que la pubertad está avanzando y que la madurez sexual está llegando.

Por otro lado, una respuesta negativa es difícil de interpretar ya que no diferencia entre una pubertad retrasada y una deficiencia aislada de gonadotrofinas. Si la testosterona, LH y FSH con bajos (valores prepuberales) a la edad de 18 años, y no hay respuesta al test del clomifeno el diagnóstico de hipogonadismo hipogonadotrófico debe ser considerado.

En mujeres en edad reproductiva la respuesta normal está dada por un aumento en LH sérico de por lo menos 2 veces con relación al nivel basal. Una concentración de progesterona de 30 nmoles/l o mayor en el día 19 indica ovulación adecuada y formación del cuerpo lúteo.

Ha sido reportado que los niveles plasmáticos de LH-RH aumentan gradualmente con la administración de clomifeno, motivo por el cual se interpreta que una elevación insuficiente de los niveles de LH y FSH luego de la administración de la droga podría deberse a una deficiencia hipotalámica, sin embargo ha sido propuesto, aunque existen grandes controversias, de que la droga tendría un efecto directo en la hipófisis facilitando la liberación de LH. Por otro lado, estudios en ratones han demostrado que el citrato de clomifeno tiene

acción hipotalámica, y que actuaría en el útero, hipófisis e hipotálamo, prolongando la retención de receptores estrogénicos en el núcleo y deprimiendo los receptores citoplasmáticos en una relación dosis y tiempo dependiente (1).

El citrato de clomifeno aumenta la cantidad de LH liberada por el aumento de amplitud de los pulsos de LH.

Una respuesta disminuida o ausente de LH al clomifeno, asociada con un test normal al LH-RH, indicaría un enfermedad hipotalámica primaria, en cambio que respuestas anormales a los dos estímulos serían indicativas de enfermedad hipofisaria primaria, sin embargo las frecuentes excepciones junto al hecho de que la adenohipófisis presenta, a semejanza de glándulas periféricas, hipotrofia en la ausencia de la hormona trófica hipotalámica, no permiten, en la práctica, una aceptación plena de este esquema teórico. Entretanto, infusiones repetidas de LH-RH durante 7 días, permiten distinguir funcionalmente los hipogonadismos hipogonadotróficos de origen hipotalámico de los de origen hipofisario (25). Por lo tanto, una investigación fisiopatológica de la función gonadotrófica en enfermedades hipotálamo-hipofisarias, exige, para una mayor precisión, la realización seriada de determinaciones basales de la secreción pulsátil de LH junto a pruebas funcionales de infusión repetida de LH-RH y el test del citrato de clomifeno.

PRUEBA DE ESTIMULO CON hCG

El estímulo de las gonadotrofinas coriónicas sobre la secreción de testosterona por las células de Leydig es útil para estudiar el estado funcional del testículo. Se administran 3.000 UI/día por vía I.M. durante 4 días consecutivos, determinándose la testosterona basalmente y al 4o día. En sujetos normales se produce una elevación de los niveles basales normales, comprendidos entre 140 y 639 ng/100 ml, a cifras mayores por lo menos el 100 %. Otro esquema es la administración de 5.000 UI de hCG en un goteo fisiológico durante 4

horas. Se determina la testosterona plasmática basalmente, a las 4, 12 y 24 horas. La máxima elevación se encuentra a las 12 horas con valores dobles a los iniciales.

En los hipogonadismos de origen testicular no hay respuesta, mientras que en los de origen hipotálamo-hipofisario la respuesta es variable de normal a nula.

ESTIMULO UTERINO CON ESTROGENOS Y PROGESTERONA

Por razones de comodidad utilizamos preparados depot, administrando dos inyecciones de valerianato de estradiol con una pausa entre las mismas de 10 días; la segunda inyección de estrógeno se acompaña de la administración de 250 mg de capronato de hidroxiprogesterona. El apareamiento de la menstruación nos sirve para descartar una causa uterina de amenorrea.

PRUEBA DE ESTIMULO CON GONADOTROFINA MENOPAUSAL HUMANA (HMG)

Se administra durante 5 días consecutivos 500 UI de HMG, valorando la respuesta de los estrógenos a esta gonadotropina. Se determina los niveles urinarios de estrógenos en las 24 horas previas a la administración de HMG y en las 24 horas consecutivas a la última administración de HMG. Esta prueba nos sirve en aquellos casos de falla gonadal primaria que cursan con niveles normales o reducidos de gonadotropinas, a pesar de no existir enfermedad hipotálamo-hipofisaria. La falta de aumento de los niveles de estrógenos indica una falla gonadal.

INVESTIGACION DE PRL

Se ha intentado establecer relaciones entre los valores basales de PRL y el tamaño del tumor. Algunos autores opinan que sobre los 200 ng/ml debe sospecharse de un tumor hipofisario, las cifras superiores a 500 ng/ml serían patognomónicas del adenoma.

PRUEBA DE LA L-DOPA

Es una prueba de supresión de PRL a nivel plasmático. Según nuestra experiencia, 500 mg de L-Dopa por vía oral provocan una caída significativa en los niveles de PRL. En los casos de tumor hipofisario asociado con elevada hiperprolactinemia, la prueba puede ser negativa, lo que significa que la producción hipofisaria de PRL es autónoma.

PRUEBA DE TRH

Para investigar la respuesta de la PRL utilizamos una dosis de 450 ug de TRH. Normalmente se produce un aumento del 100 o/o de los valores basales de PRL a los 30 minutos (6). Esta elevación suele, en condiciones normales, ser suprimida por la administración de L-Dopa. En caso de que un sujeto presente una respuesta dudosa a L-Dopa, se pueden realizar las dos pruebas simultáneamente (1º L-Dopa PO y a los 60 minutos inyección I.V. de TRH). Si los resultados muestran una elevación de PRL con la correspondiente falla en la acción de la L-Dopa, podremos tener más bases para pensar en un tumor hipofisario (12).

Otras pruebas como la de la Clorpromacina produce un aumento en los niveles de PRL por evitar la frenación tóptica hipotalámica (9). Se administra por vía I.M. una dosis de 25 mg. En casos de tumor hipofisario no suele presentarse una respuesta normal, sino que no hay elevación significativa de PRL. La falta total de respuesta habla en favor de un tumor adenohipofisario (27). Existen otros centros, entre ellos el nuestro, que piensan que ninguna de las pruebas mencionadas anteriormente son útiles para diferenciar un adenoma hipofisario y piensan que el diagnóstico de tumor debe realizarse a través de otros medios complementarios de diagnóstico como la tomografía axial computarizada (TAC) de alta resolución.

PRUEBA DE LA METIRAPONA

Esta prueba se basa en la inhibición de la

11 B-hidroxilasa, impidiendo de esta manera la formación de cortisol, por lo que hay un aumento del CRF, con un aumento de ACTH endógeno con el consecuente aumento de productos de degradación y aumento de andrógenos (16).

Técnica

- a) Recoger orina de 24 horas durante dos días anteriores, como muestras basales para dosificar 17 cetogénicos y 17 cetosteroides.
- b) Ingestión de 750 a 1.000 mg de Metirapona cada 4 horas durante un día.
- c) Recoger orina de 24 horas durante el día de la prueba y el siguiente para dosificar 17 cetogénicos y 17 cetosteroides.

Resultados

Los valores basales normales en orina de 24 horas son de 7 a 23 mg para los 17 cetogénicos y de 6 a 15 mg en el hombre y de 4 a 10 en la mujer para los cetosteroides.

Los pacientes normales sufren un aumento progresivo durante los días de la prueba, siendo mucho mayor el incremento de los 17 cetogénicos que de los 17 cetosteroides, llegando a cifras de 90 mg y de 40 mg respectivamente. Los pacientes con hipofunción hipofisaria responden insuficientemente; en cambio que aquellos con insuficiencia primaria (Enfermedad de Addison) no experimentan ninguna respuesta.

PRUEBA DE ESTIMULACION CON ACTH

Se toma una muestra basal para determinación de cortisol. Se administra por vía I.M. 1 ampolla de 1ml (250 ug) de cortosin disuelto en 1 ml de salina y se toman muestras a los 30 y 60 minutos para dosificar cortisol. La prueba es positiva cuando los valores de cortisol basal se duplican a los 30 y 60 minutos. Una ausencia de respuesta significa Enfermedad de Addison o una marcada atrofia adrenal secundaria a una

prolongada y severa ausencia de ACTH. En este caso se impone la realización de un test de estímulo prolongado con ACTH o determinación de los niveles de ACTH plasmático que es de mayor utilidad para establecer el diagnóstico diferencial entre insuficiencia adrenal primaria o secundaria.

El test prolongado se realiza con la administración de cortosina depot 1 mg I.M. durante tres días y se realiza la determinación de 17 cetogénicos en orina de 24 horas el día anterior al inicio de la prueba y en orina de 24 horas luego de la última dosis de ACTH depot. En sujetos normales, los valores post estímulo deben doblar los valores basales.

Esta prueba prolongada nos permite diferenciar entre falla adrenal primaria, en la cual no se produce ninguna respuesta y la secundaria en la cual se observa una respuesta.

TEST DE ESTIMULO CON VASOPRESINA

Se inyecta 10 UI I.M. (1/2 ampolla de pitresin acuoso) y se realiza tomas de sangre a los 0, 15, 30, 45 y 60 minutos para determinación de cortisol. Una respuesta normal a la vasopresina, que actuaría como CRF, debe producir un aumento de 10 mU/ml de cortisol. Esta prueba nos sirve para estudiar la integridad de la unidad hipotálamo-hipofisaria-adrenal.

Bibliografía

1. Adashi, E. Y., Hsueh, A. J. W. and Yen, S. S. C.: Alterations induced by clomiphene in the concentrations of oestrogen receptors in the uterus, pituitary gland hypothalamus of female rats. *J. Endocrinol.*, 87: 383, 1980.
2. Boyd, A. E. and Sanchez-Franco, F.: Changes in the prolactin response to thyrotropin-releasing hormone (TRH) during the menstrual cycle of normal woman. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 44: 985, 1977.
3. Cooper, D. S. and Jacobs, L. S.: Apomorphine inhibits the prolactin but not the TSH response to thyrotropin releasing hormone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 44: 404, 1977.

4. Daughaday, W. H.: The adenohipophysis. In: *Textbook of Endocrinology*, cap. 3, pp. 73. Williams, R. H. (ed.). W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1981.
5. Girard, J., Staub, J. J., Baumann, J. B., Stahl, M. and Nars, P. W.: Assessment of hypothalamo-anterior pituitary secreting capacity with one single test. *Acta Endocr. Suppl.* 184: 22, 1974.
6. Hershman, J. M., Kosima, A. and Friesen, H. G.: Effect of thyrotropin-releasing hormone on human pituitary thyrotropin, prolactin, placental lactogen, and chorionic thyrotropin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 36: 497, 1973.
7. Jackson, D., Grant, D. B., Clayton, B. E.: A simple oral test of growth-hormone secretion in children. *Lancet*, 2: 373, 1968.
8. Jenkins, J. S., Gilbert, C. J. and Aug, V.: Hypothalamic-pituitary functions in patients with craniopharyngiomas. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 43: 393, 1976.
9. Judd, S. J., Lazarus, L. and Smythe, G.: Prolactin secretion by metoclopramide in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 43: 313, 1976.
10. Lasley, B. L., Wang, C. F. and Yen, S. S. C.: Assessment of the functional capacity of the gonadotrophs in men: effects of estrogen and clomiphene. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 43: 182, 1976.
11. Lacey, K. A., Hewison, A. and Parkin, J. M.: Exercise as a screening test for growth hormone deficiency in children. *Arch. Dis. Child.*, 48: 508, 1973.
12. Leblanc, H. and Yen, S. S. C.: The effect of L-Dopa and Chlorpromazide on prolactin and growth hormone secretion in normal women. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 126: 162, 1976.
13. Lin, T. and Tucci, J. R.: Provocative test of growth-hormone release. A comparison of results with seven stimuli. *Am. Intern. Med.*, 80: 464, 1974.
14. Lundberg, P. O.: Clinical evaluation of the luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) test in cases with anatomically verified disorders of hypothalamo-pituitary region. *Acta Neurol. Scand.*, 49: 461, 1973.
15. Masip-Marzá, V.: Panhipopituitarismo. En: *Exploraciones Funcionales Endocrinometabólicas*. Charro Salgado, A.L. (ed.). Ediciones Toray, Barcelona, cap. 3, pp. 17, 1979.
16. Migeon, C. J.: Estimation of ACTH reserve on normal and hypopituitary subjects. Comparison of oral and intravenous metyrapone with insulin hypoglycemia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 37: 540, 1973.
17. Miyake, A., Aono, T., Minagawa, J., Kawamura, Y. and Kurachi, K.: Changes in plasma luteinizing hormone-releasing hormone during clomiphene-induced ovulatory cycles. *Fertil. Steril.*, 34: 172, 1980.
18. Moreira, A. C., Antunes-Rodrigues, F., Foss, M. C., Iazigi, N. and Verissimo, J. M. T.: Secreção basal pulsátil de hormônio luteinizante e de testosterona no homem adulto normal. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.*, 25: 1, 1981.
19. Moreira, A. C., Verissimo, J. T. M., Foss, M. C., Iazigi, N., Lima, F. E. C., Antunes-Rodrigues, J. and Machado, H. R.: Citrato de clomifeno na avaliação funcional da secreção de hormônio luteinizante em indivíduos normais e com doenças do eixo hipotálamo-hipófise. Correlação com o teste do LH-RH. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.*, 26: 41, 1982.
20. Nakagawa, K.: Thyrotropin response to repeated injection of thyrotropin releasing hormone. *Horm. Metab. Res.*, 7: 217, 1975.
21. Parker, D. C., Rossman, L. G. and Vanderlaan, E. F.: Relation of sleep-entrained human prolactin release to REM-no REM cycles. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, 38: 646, 1974.
22. Refetoff, S., Frank, P. H., Roubesh, C. and De Groot, L. J.: Evaluation of Pituitary Function. In: *Endocrinology*, De Groot, L. J. (ed.). Grune and Stratton, New York, cap. 17, pp. 175, 1979.

23. Sato, T., Inoue, M., Masuyama, T., Suzuki, Y., Izumisawa, A., Taketani, T., Takata, I., Ishiguro, K. and Nakajima, H.: Simultaneous evaluation of the pituitary reserve of GH, TSH, ACTH, and LH in children. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 39: 395, 1974.
24. Schally, A. V.: Aspects of hypothalamic regulation of the pituitary gland. Its implications for the control of reproductive processes. *Science*, 202: 18, 1978.
25. Snyder, P. J., Rudenstein, R. S., Gardner, D. F. and Rothman, J. G.: Repetitive infusion of gonadotropin-releasing hormone distinguishes hypothalamic from pituitary hypogonadism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 48: 864, 1979.
26. Snyder, P. J. and Utiger, R. D.: Response to thyrotropin releasing hormone (TRH) in normal man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 34: 380, 1972.
27. Turkington, R. W.: Secretion of prolactin by patients with pituitary and hypothalamic tumors. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 34, 159, 1972.
28. Turkington, R. W.: Prolactin secretion in patients treated with various drugs: Phenothiazines, tricyclic antidepressants, reserpine, and methyldopa. *Arch. Intern. Med.*, 130: 349, 1972.
29. Wollesen, F., Swerdloff, R. S. and Odell, W. D.: LH and FSH responses to luteinizing-releasing hormone in normal, adult, human males. *Metabolism*, 25: 845, 1976.