

Puesta al día: pruebas de laboratorio en Endocrinología y Nutrición

Ovario: estrógenos, gestágenos, andrógenos, globulina fijadora de hormonas sexuales, inhibinas y cariotipo

LOURDES IBÁÑEZ TODA^a Y NEUS POTAU VILALTA^b

^aSección de Endocrinología. Hospital Sant Joan de Déu. Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

^bLaboratorio Hormonal. Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron, Barcelona. España.

OVARY: ESTROGENS, GESTAGENS, ANDROGENS, SEX HORMONE-BINDING GLOBULIN, INHIBINS AND KARYOTYPE

The ovary has both endocrine and reproductive functions and synthesizes estrogens, progesterone, androgens, growth factors, inhibins, activins and follistatin.

The present article reviews the following:

1. The physiology of the pituitary-gonadal axis and the laboratory techniques used to assess both reproductive and endocrine functions, as well as their clinical application, specifically in precocious and delayed puberty, ovulatory dysfunction, ovarian hyperandrogenism, and gonadal abnormalities due to autoimmune diseases, chemotherapy and radiotherapy.
2. The stimulation and suppression tests used in the differential diagnosis of pubertal disorders and ovarian hyperandrogenism.
3. The usefulness of karyotype in the characterization of gonadal disorders, specifically Turner's syndrome and premature ovarian failure.

Key words: Pituitary-gonadal axis. Ovarian stimulation tests. Precocious puberty. Delayed puberty. Ovarian hyperandrogenism. Inhibin. Antimüllerian hormone. Turner's syndrome. Premature ovarian failure.

El ovario es un órgano con capacidad germinal y endocrina, que sintetiza estrógenos, progesterona, andrógenos, factores locales de crecimiento, inhibinas, activina y follistatina.

En este artículo se revisa:

1. La fisiología del eje hipófiso-gonadal y las diferentes técnicas de laboratorio utilizadas en la determinación de los parámetros informativos de la función germinal y endocrina, así como sus aplicaciones clínicas en entidades como la pubertad precoz y retrasada, los trastornos de la ovulación, el hiperandrogenismo ovárico y los trastornos gonadales secundarios a trastornos inmunológicos, radioterapia y quimioterapia.
2. Las pruebas de estimulación y supresión utilizadas en el diagnóstico diferencial de los trastornos puberales y del hiperandrogenismo ovárico.
3. La utilidad del cariotipo en la caracterización de los trastornos gonadales, específicamente el síndrome de Turner y el fallo ovárico precoz.

Palabras clave: Eje hipófiso-gonadal. Pruebas de estimulación ovárica. Pubertad precoz. Pubertad retardada. Hiperandrogenismo ovárico. Inhibina. Hormona antimülleriana. Síndrome de Turner. Fallo ovárico precoz.

INTRODUCCIÓN

El ovario es un órgano con una doble función: germinal o reproductora, que proporciona oocitos, y endocrina, con la capacidad de sintetizar estrógenos, progesterona, y en menor proporción, andrógenos, factores locales de crecimiento, inhibinas, activina y follistatina. La plena adquisición de estas capacidades ocurre en la adolescencia, una vez finalizado el desarrollo puberal, e implica cambios anatómicos y funcionales que se inician en el período prenatal.

Función endocrina

La estroma ovárica contiene las células de la teca, en cuya capa externa se sintetizan los andrógenos, bajo la regulación de la hormona luteinizante (LH) hipofisaria, y las células de la granulosa, que aromatizan los andrógenos a estradiol, estimuladas por la hormona foliculoestimulante (FSH).

Correspondencia: Dra. L. Ibáñez Toda
Sección de Endocrinología. Hospital Sant Joan de Déu. Universidad de Barcelona.
Passeig de Sant Joan de Déu, 2. 08950 Esplugues. Barcelona. España.
Correo electrónico: libanez@hsjdbcn.org

Manuscrito recibido el 27-9-2006 y aceptado para su publicación el 16-10-2006.

Síntesis de los esteroides sexuales

La vía de síntesis de los andrógenos es común para el ovario y la glándula suprarrenal. Se inicia mediante una enzima limitante que rompe la cadena lateral del colesterol dando lugar a la pregnenolona (fig. 1). La pregnenolona sigue dos vías de conversión, una es la vía de los esteroides $\Delta 5$, en la cual, por acción del citocromo P450c17, que posee actividad 17 α -hidroxilasa y 17-20 liasa, se convierte en 17-hidroxipregnenolona (17OH-Preg) y dehidroepiandrosterona (DHEA), respectivamente, y la otra es la vía de los esteroides $\Delta 4$, donde la progesterona pasa por las mismas actividades enzimáticas a 17-hidroxiprogesterona (17-OHP) y androstendiona. Los pasos de los esteroides $\Delta 5$ a $\Delta 4$ son asumidos por la enzima 3 β -hidroxisteroide deshidrogenasa (3 β -HSD). Las células de la teca ovárica bajo el estímulo de la LH segregan androstendiona y testosterona; la androstendiona es aromatizada por las células de la granulosa estimuladas por la FSH para dar lugar a las estronas; a partir de la testosterona se sintetiza estradiol. La síntesis de los andrógenos ováricos varía durante el ciclo menstrual; es mínima en la primera fase del ciclo, denominada fase folicular (del primer al octavo día del ciclo menstrual).

Transporte de los esteroides sexuales

Los esteroides sexuales son transportados en el plasma por una proteína específica, denominada globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG), similar a las proteínas transportadoras para la tiroxina o los corticosteroides. La SHBG transporta principalmente testosterona y estradiol. Una fracción menos importante de las hormonas sexuales es transportada inespecífica-

mente por la albúmina y aproximadamente un 1% de la testosterona circula en plasma en forma libre. Esta fracción libre se considera biológicamente activa, ya que es la que difunde por las células diana para unirse al receptor androgénico^{1,2}.

Durante la pubertad, la SHBG disminuye ligeramente en las niñas y muy marcadamente en los niños. Los andrógenos, la insulina, la hormona de crecimiento (GH) y los glucocorticoides disminuyen la síntesis de SHBG, mientras que los estrógenos y la hormona tiroidea la aumentan.

La determinación de la SHBG, en un principio, era indirecta hasta el desarrollo del inmunoensayo. Actualmente muchos de los kits comerciales la determinan directamente con un anticuerpo específico. En un estudio que compara diversos métodos³, 3 de ellos isotópicos, uno inmunométrico y otro indirecto con dihidrotestosterona marcada con tritio y filtro de dietilaminoetilcelulosa⁴, se observaron resultados muy diferentes, ya sea porque los anticuerpos procedían de diferentes especies, ya sea por diferencias metodológicas.

La determinación de SHBG es útil fundamentalmente en la caracterización del hiperandrogenismo en la mujer y del hipogonadismo en el varón; es necesario establecer los valores de referencia para cada laboratorio, en función del método utilizado y del sexo, ya que existe dimorfismo sexual.

Dada su regulación por la insulina, la SHBG también se consideró un marcador de resistencia a la insulina y su determinación, cuando está disminuida, puede ser útil para identificar a pacientes con hiperandrogenismo ovárico susceptibles de tratamiento con fármacos sensibilizantes de la insulina⁵.

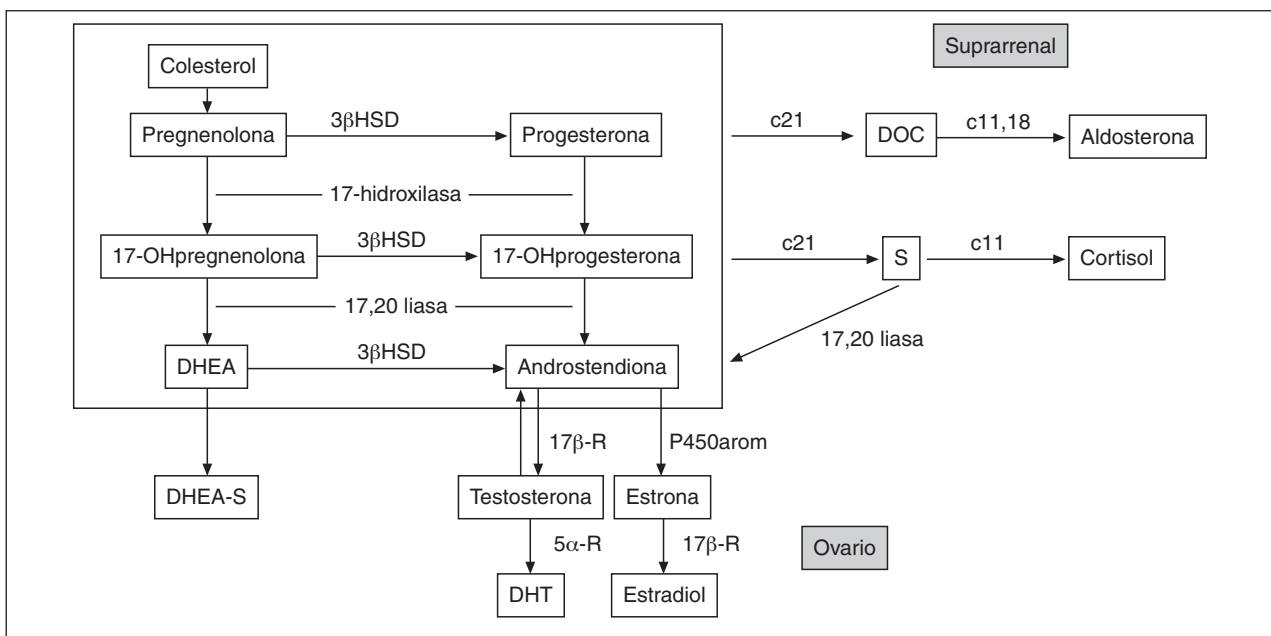


Fig. 1. Vía sistémica común de los andrógenos en la suprarrenal y en el ovario. C21: 21-hidroxilasa; C11: 11 β -hidroxilasa; DHEA: dehidroepiandrosterona; DHT: dihidrotestosterona; DOC: deoxicorticosterona; S: 11 deoxicortisol; P450arom: P450 aromataasa; 5 α -R: 5 α -reductasa; 3 β HSD: 3 β -hidroxisteroide deshidrogenasa; 17 β -R: 17 β -hidroxisteroide deshidrogenasa.

Regulación de la actividad androgénica

La actividad de los andrógenos está regulada en los tejidos diana, especialmente en la piel, por 2 proteínas: el receptor androgénico y la enzima 5 α -reductasa (5 α -R). A nivel periférico, la actividad 5 α -R transforma la testosterona en dihidrotestosterona (DHT), el más activo de los andrógenos, ya que es el que tiene mayor afinidad por el receptor⁶. Mientras que la actividad 5 α -R presente en los genitales externos no parece ser dependiente de andrógenos, no ocurre lo mismo con la enzima localizada en la piel pubiana, cuya actividad está mediada por el receptor androgénico. La actividad 5 α -R no se limita exclusivamente a la testosterona, sino que la DHT producida puede también ser secundaria a la acción de la enzima en la androstendiona. Parece existir una cierta correlación entre la actividad 5 α -R y la concentración de un metabolito de la testosterona y DHT, el 3 α -androstanoediol⁶.

El andrógeno mayormente utilizado como indicador androgénico es la testosterona, que hace aproximadamente 30 años se determinaba en los laboratorios clínicos mediante radioinmunoanálisis (RIA) que introducían inicialmente extracciones con solventes orgánicos y purificaciones cromatográficas. Posteriormente, la posibilidad de obtener anticuerpos más específicos hizo eliminar los tratamientos previos al RIA de extracciones y cromatografías. Actualmente, los ensayos de testosterona que se realizan en la mayoría de hospitales y laboratorios de referencia son inmunoensayos automatizados con detectores de fluorescencia o de quimioluminiscencia. El coste económico y su practicidad han hecho que se generalicen, aunque algunos de estos ensayos tienen una limitada validación desde el punto de vista de la especificidad y de la exactitud. Una demostración de ello es el estudio comparativo de los 4 métodos automatizados más usados (Roche Elecsys, Bayer Centaur, Ortho Vitros y DPC Immulite 2000), y 2 RIA comerciales comparados con la cromatografía líquida en tándem con espectrometría de masas⁷. Una vez analizados los resultados, los autores consideran que algunos de los valores de referencia de las casas comerciales son inapropiados, de lo que se deduce que cada laboratorio debe obtener sus propios valores. En segundo lugar, DPC-RIA y Roche Elecsys tienen una buena correlación con los valores obtenidos por cromatografía-espectrometría de masas; por último, aconsejan que sin ninguna modificación previa, los demás métodos automatizados no son aceptables para determinar testosterona en mujeres y niños.

La variación de los valores de andrógenos (testosterona, DHEA-sulfato [DHEAS], androstendiona) y SHBG en mujeres según la edad se ha estudiado en una amplia población de mujeres con edades comprendidas entre los 18 y los 72 años de edad⁸.

Otro parámetro utilizado para cuantificar la actividad androgénica es la testosterona libre; sin embargo, la sensibilidad y la exactitud de la mayoría de los mé-

todos son cuestionables, sobre todo en mujeres con valores de testosterona total unas 10 veces inferior a los de los varones, y valores de testosterona libre unas 20 veces inferior. En una comparación de métodos con el de diálisis considerado de referencia, se puso de manifiesto que el cálculo del índice de andrógenos libre, equivalente a la testosterona libre, y por tanto, biológicamente activa (IAL, testosterona (nmol/l) \times 100/SHBG), se correlacionaba bien con el método de referencia⁹. Dados los problemas metodológicos en la determinación de la testosterona libre¹⁰ muchos autores utilizan el IAL en la evaluación del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal¹¹.

Inhibina

La inhibina es una glucoproteína producida por las células de la granulosa del ovario. Es una hormona no esteroidea, que fue definida inicialmente por su propiedad de suprimir las gonadotropinas¹². En su forma biológicamente activa, es un dímero consistente en una subunidad α unida a una subunidad β A (inhibina A) o β B (inhibina B). La utilización de métodos de laboratorio específicos, como el ELISA, ha permitido dilucidar las variaciones en los valores séricos de las 2 subunidades en función de la edad. Las primeras técnicas de inhibina tenían reacción cruzada con diversas formas moleculares, algunas de ellas inactivas. Posteriormente, el enzimoensayo (ELISA) con doble anticuerpo fue capaz de detectar solamente la inhibina dimérica. Sin embargo, sólo un ensayo tuvo suficiente sensibilidad para detectar la inhibina a lo largo del ciclo menstrual¹³. A pesar de su sensibilidad, este ensayo no distinguía entre inhibina A y B; cuando pudo obtenerse un estándar de inhibina B se demostró que lo que se determinaba era fundamentalmente inhibina A. Groome et al¹³ publicaron el primer ensayo específico y altamente sensible para inhibina B; se estudió sus variaciones a lo largo del ciclo menstrual. El ensayo tenía una sensibilidad de 10 pg/ml y una reacción cruzada con la inhibina A del 0,5%.

La inhibina A está presente sólo en la mujer, es baja en la fase folicular, aumenta en la ovulación y es máxima durante la mitad de la fase luteal; es indetectable de los 6 meses a los 8 años de edad¹⁴.

La inhibina B, producida en los folículos antrales bajo el estímulo de la FSH, es la forma de inhibina característica de la fase folicular del ciclo, y es detectable a todas las edades¹⁴. En las niñas, los valores más bajos de inhibina B se observan entre los 6-24 meses de edad^{15,16}, y aumentan durante los primeros estadios de la pubertad, al mismo tiempo que los valores de LH hipofisaria^{14,16,17}. Las concentraciones de inhibina B disminuyen al final de la pubertad, y en la mujer, son bajas en la fase folicular y presentan una correlación positiva con los valores de FSH¹⁴.

Las concentraciones plasmáticas de inhibina B aumentan rápidamente en la fase folicular inicial hasta

un pico de $85,2 \pm 9,6$ pg/ml. Cuando en la mitad del ciclo aumenta la FSH, la inhibina B disminuye y permanece baja el resto de la fase folicular. Dos días después del pico de LH, en la mitad del ciclo, se produce otro pico breve de inhibina B con concentraciones de $133,2 \pm 31,2$ pg/ml para luego descender a concentraciones < 20 pg/ml durante el resto de la fase luteal¹⁴. La inhibina B es un marcador periférico del desarrollo folicular ovárico, ya que refleja la función de las células de la granulosa de los pequeños folículos antrales¹⁸. El aumento global en el número de estos folículos durante la mitad de la pubertad contribuye al aumento de las concentraciones de este producto en niñas puberales.

Hormona antimülleriana (AMH)

La hormona antimülleriana (AMH) es una glucoproteína dimérica, que pertenece a la familia del factor de transformación del crecimiento beta (TGF- β). La AMH induce la regresión de los conductos de Müller durante la vida intrauterina, es producida por las células de la granulosa del ovario e inhibe la maduración de los folículos primordiales y el crecimiento de los folículos preantrales¹⁹⁻²¹. Estudios realizados en ratas parecen indicar que la AMH sería uno de los factores determinantes de la respuesta folicular a la FSH²².

Los valores séricos de AMH en mujeres son casi indetectables en el período neonatal, sufren un ligero aumento en los primeros 2-4 años de vida, se estabilizan posteriormente en la edad adulta, y descienden de nuevo en la perimenopausia²³. La AMH muestra pocas variaciones a lo largo del ciclo menstrual, se correlaciona con el número de folículos antrales, y parece ser de utilidad como marcador de la actividad o "edad" ovárica²⁴⁻²⁷.

En los estudios de infertilidad, el valor predictivo de la FSH, el estradiol y la inhibina B en las mujeres en tratamiento es controvertido, y aunque el valor predictivo más importante sigue siendo la edad, la AMH se considera un marcador fiable independiente de la instauración y evolución del embarazo²⁸.

Función reproductora

La población total de oocitos, que posteriormente formarán los folículos ováricos, se constituye durante el desarrollo fetal. De unos 400.000 oocitos presentes al nacimiento, sólo unos 400 completarán el ciclo madurativo; el resto sufre un proceso de apoptosis²⁹. La foliculogénesis está regulada por factores autocrinos, y en sus últimas etapas –desarrollo de los folículos terciarios o preantrales, del folículo de Graaf y selección del folículo dominante u ovulatorio– está regulada por las gonadotropinas hipofisarias. Durante la fase folicular del ciclo los valores de FSH aumentan progresivamente y estimulan el crecimiento del folículo antral, y el incremento de los valores de estradiol y andrógenos en el líquido folicular y en la circulación periférica. El aumento de los valores de estradiol inhi-

be la secreción de FSH y estimula la de LH, produciéndose un pico secretor de ésta (previo a la ovulación), que a su vez determina la luteinización de las células de la granulosa. La ovulación se acompaña de un nuevo pico secretor de FSH, y de un aumento de LH y estradiol, con lo que se inicia la fase luteal (días 14-28 del ciclo). Los valores de gonadotropinas y estradiol caen bruscamente y se forma el cuerpo lúteo, que sintetiza progesterona. El cuerpo lúteo tiene una vida media de 14 días; su atrofia es seguida del sangrado menstrual³⁰.

Cuantificación de los esteroides sexuales y de la SHBG

Las determinaciones basales de estrógenos, andrógenos y SHBG se realizan actualmente en la mayoría de laboratorios por RIA o inmunoensayos no isotópicos. Este sistema es muy útil desde el punto de vista práctico, pero en algunas situaciones, como es el caso de la pubertad precoz y de la medición de estradiol, no tiene suficiente capacidad de discriminación diagnóstica.

Las concentraciones de estradiol en las niñas prepuberales no han podido determinarse por la escasa sensibilidad de los métodos inmunológicos. En un estudio realizado en niñas con telarquia prematura, definida como la aparición del botón mamario antes de los 8 años, se pudo determinar el estradiol con un bioensayo recombinante ultrasensible. Los valores encontrados fueron de $8,4 \pm 4,5$ pmol/l o sea $2,3 \pm 1,2$ pg/ml superior al del grupo control de niñas prepuberales de $3,3 \pm 3,5$ pmol/l equivalente a $0,9 \pm 1,0$ pg/ml. La sensibilidad de dicho bioensayo era de 0,07 a 0,7 pmol/l (0,02-0,2 pg/ml)³¹. En la actualidad los RIA con mayor sensibilidad utilizados en los laboratorios clínicos son capaces de detectar hasta 5 pg/ml.

Pubertad precoz y retrasada

En la niña, la pubertad se considera precoz si el desarrollo mamario se inicia antes de los 8 años. En el 90% de los casos, se tratará de una pubertad precoz central idiopática, es decir, de una activación precoz del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal de etiología desconocida. En estos casos, teóricamente, las concentraciones séricas de estradiol (y de gonadotropinas) se encuentran elevadas. Sin embargo, en estadios iniciales de la pubertad, cuando la instauración de un tratamiento frenador es efectiva, los valores de estradiol (y de gonadotropinas) se encuentran en muchas ocasiones por debajo de los límites de detección del RIA convencionales, y otros métodos como el inmunoensayo con quimioluminiscencia tampoco son altamente discriminativos³². Recientemente, se ha postulado la utilización de métodos ultrasensibles para la medición del estradiol, como el bioensayo de células recombinantes³³. Su uso en la práctica diaria, sin embargo, está limitado por la ausencia de datos de normalidad en pacientes prepuberales y puberales³⁴. Por consi-

guiente, hay que recurrir habitualmente a pruebas de estimulación para realizar el diagnóstico de pubertad precoz central evolutiva (véase más adelante).

En la pubertad precoz periférica, entidad poco frecuente en pediatría, los valores séricos de estradiol se encuentran elevados frente a unos valores indetectables de gonadotrofinas hipofisarias.

En la pubertad retrasada de origen secundario (hipogonadismo hipogonadotrófico), la situación es muy parecida a la de la pubertad precoz central idiopática, en cuanto a que los valores basales de gonadotrofinas y estradiol no permiten en general hacer un diagnóstico de certeza. En la pubertad retrasada de origen primario (*hipogonadismo* hipergonadotrófico), los valores bajos de estradiol coexisten con valores elevados de gonadotropinas; en general, no es necesaria la práctica de pruebas de estimulación.

Hiperandrogenismo ovárico

El síndrome del ovario poliquístico (SOPQ) es la causa más frecuente de exceso de producción androgénica en adolescentes y mujeres jóvenes; afecta aproximadamente a un 3% de la población femenina en edad fértil³⁵. Los criterios diagnósticos del SOPQ han sido recientemente revisados en una reunión de expertos en mayo de 2003³⁶. Para el diagnóstico, se consideran necesarios 2 de los 3 criterios siguientes:

1. Presencia de oligoovulación o anovulación crónica.
2. Presencia de signos clínicos y/o bioquímicos de hiperandrogenismo.
3. Presencia ecográfica de ovarios poliquísticos.

Desde el punto de vista práctico, se considera que el SOPQ y el hiperandrogenismo ovárico funcional de manifestación peripuberal o pospuberal son la misma entidad³⁷. El hiperandrogenismo ovárico se acompaña frecuentemente de un exceso de producción de andrógenos suprarrenales –en ausencia de defectos enzimáticos de la esteroidogénesis suprarrenal– y presenta una incidencia elevada en determinados grupos poblacionales, como por ejemplo, en las adolescentes con antecedentes de bajo peso al nacer e historia de pubarquia precoz en la infancia^{38,39}, y en las adolescentes y mujeres jóvenes con obesidad⁴⁰.

Para el diagnóstico, se deben determinar los andrógenos basales (testosterona total, androstendiona, DHEAS) en la fase folicular precoz del ciclo menstrual (3.º-5.º día), o después de al menos 2 meses de amenorrea, además de la SHBG, la 17-hidroprogesterona (17-OHP) y el IAL. Valores basales de 17-OHP inferiores a 10 ng/ml (en fase folicular) excluyen la presencia de una forma tardía de hiperplasia suprarrenal congénita por déficit de 21-hidroxilasa⁴¹. El valor diagnóstico de las determinaciones de LH y estradiol es discutible; la valoración de la función tiroidea y de la prolactina permite descartar la presencia de otras endocrinopatías.

Si los valores de andrógenos, SHBG y gonadotrofinas son normales, podemos excluir una causa suprarrenal u ovárica del exceso de andrógenos. En un porcentaje de estas pacientes, la determinación de las cifras de 3 α -androstenediol permitirá demostrar el origen periférico del hiperandrogenismo⁴².

Si la testosterona total es superior a 200 ng/dl hay que descartar un tumor virilizante. Del mismo modo, si la DHEAS es superior a 600 μ g/dl conviene descartar una masa suprarrenal. El hallazgo de valores normales de testosterona total no descarta el origen ovárico del exceso de andrógenos. Por ese motivo es importante el cálculo del índice de andrógenos libre y de la SHBG, ya que valores bajos de esta proteína transportadora determinan un aumento de la testosterona libre, y por tanto, biológicamente activa. En la actualidad, no existe un estándar de laboratorio para los valores de testosterona libre, ya que los resultados varían considerablemente según las técnicas utilizadas^{9,43}.

En el hiperandrogenismo de origen suprarrenal, se encuentran en general valores basales moderadamente elevados de DHEAS, mientras que si el exceso de andrógenos es de origen ovárico, las cifras basales de androstendiona y testosterona estarán aumentadas, acompañadas ocasionalmente de elevación de los niveles de LH o del cociente LH/FSH (> 2), y de una disminución de las concentraciones de SHBG.

Cuantificación de las concentraciones de progesterona

En mujeres con ciclos menstruales regulares, el aumento de los valores de progesterona sérica por encima de 15 ng/ml en la fase luteínica (día 21 del ciclo menstrual) es indicativo de ovulación⁴⁴. La progesterona salival y la progesterona en sangre capilar recogida en papel de filtro se han determinado en estudios realizados en adolescentes sanas y en adolescentes afectas de hiperandrogenismo ovárico; se encontró una buena correlación con los valores de la progesterona sérica^{45,46}. En el caso de la progesterona salival, se consideran indicativos de ovulación valores > 563 pg/ml detectados en los 15 días que preceden al ciclo³³. En el caso de la determinación de progesterona en sangre capilar recogida en papel de filtro, valores de 1,0 ng/ml o superiores en los 5-6 días que preceden a la menstruación son indicativos de ovulación⁴⁶.

Cuantificación de las concentraciones de inhibina B y AMH

En los últimos años se está investigando sobre el papel de la inhibina como marcador de la función gonadal en los pacientes supervivientes de un cáncer, después de la radioterapia y/o quimioterapia. El diagnóstico de insuficiencia ovárica es fácil cuando es completa, ya que el patrón bioquímico es el de un hipogonadismo hipergonadotrófico. Sin embargo, en casos de insuficiencia ovárica parcial, la medición de

los valores de inhibina B tiene un valor diagnóstico y pronóstico⁴⁷. En niñas prepuberales con cáncer, la quimioterapia se asocia a una supresión de inhibina B, normalmente transitoria, que puede indicar una detención en el desarrollo folicular. La supresión mantenida de esta hormona después del tratamiento puede ser indicativa de daño ovárico permanente⁴⁷. En adultas supervivientes de un cáncer infantil con ciclos menstruales regulares y una función ovárica aparentemente normal, los valores bajos de inhibina B tienen un valor pronóstico de viabilidad ovárica^{47,48}.

La AMH puede determinarse en la actualidad con un método ELISA con doble anticuerpo y una gran sensibilidad (límite de detección < 0,078 ng/ml)⁴⁹. Se considera un buen marcador de la reserva folicular en mujeres perimenopáusicas y en mujeres que precisan técnicas de reproducción asistida^{50,51}. Asimismo, las mujeres con SOPQ presentan valores elevados de AMH, que muestran una correlación positiva con el grado de disfunción ovulatoria⁵². Por último, la AMH se utiliza también como marcador de recidiva tumoral en mujeres con tumores de las células de la granulosa^{24,53}.

Pruebas funcionales en afecciones ováricas

Prueba de estimulación con agonistas de GnRH

La administración de una sola dosis de un agonista de GnRH (acetato de leuprorelina, ProcrinR, 500 µg vía subcutánea) determina un estímulo potente y secuencial de las gonadotropinas hipofisarias y de los esteroides gonadales^{54,56}. El máximo estímulo hipofisario ocurre entre 1-3 h después de la administración, y la máxima respuesta gonadal tiene lugar a las 18-24 h. A efectos prácticos, la determinación de LH y FSH se realiza a las 3 horas, y la de esteroides a las 24 horas.

La prueba de agonistas es útil para el diagnóstico de los trastornos puberales, y también se utiliza para el diagnóstico del hiperandrogenismo ovárico funcional (véase "Gonadotropinas"). En este último caso, la determinación a las 24 h de la 17-OHP permitirá constatar o descartar el origen ovárico del exceso de andrógenos⁵⁵.

Prueba de supresión ovárica

En algunas pacientes con hiperandrogenismo, puede estar indicado realizar una supresión de la función ovárica cuando las pruebas de estimulación no permitan un diagnóstico etiológico. En estos casos, se administran agonistas de GnRH en forma depot o estroprogestágenos. En la práctica clínica, son poco utilizados.

La tabla 1 resume las pruebas dinámicas utilizadas en el diagnóstico de patología ovárica.

Cariotipo

Síndrome de Turner

El estudio citogenético está indicado para el diagnóstico del síndrome de Turner, entidad que ocurre en 1 de cada 2.000 recién nacidos del sexo femenino y que debe sospecharse ante la presencia de las siguientes alteraciones⁵⁷:

- Período neonatal: edema de manos y pies, pliegue nuchal, coartación de aorta, hipoplasia de cavidades izquierdas, implantación baja del pelo y pabellones auriculares.

- Infancia: talla baja y velocidad de crecimiento enlentecida, cúbito valgo, hipoplasia ungueal, nevos múltiples, facies especial, 4.º metacarpiario corto, otitis media crónica.

- Adolescencia: ausencia de desarrollo mamario a los 13 años, amenorrea primaria o secundaria con FSH elevada y talla baja.

El cariotipo en sangre periférica debe realizarse en un número suficiente de células, e indicará si se trata de una monosomía (ausencia completa del segundo cromosoma sexual [45,X0], 50-60% de los casos) o de un mosaico, asociado o no a alteraciones estructurales de los cromosomas sexuales (deleción de brazo corto o largo del cromosoma X, y cromosomas en anillo, entre otras). Las pacientes con deleciones del gen *SHOX* se consideran afectas de síndrome de Turner si la deleción es proximal a Xp22.2-Xp22.3⁵⁸.

Cuando se sospecha clínicamente un síndrome de Turner y el cariotipo en sangre es normal, éste debe

TABLA 1. Pruebas dinámicas utilizadas en el diagnóstico de patología ovárica

	Determinaciones	Parámetros	Valoración
Hiperandrogenismo ovárico Acetato de leuprorelina (Procrin, 500 µg s.c. 1 dosis)	Basal, 3 h y 24 h	LH, FSH, 17-OHP, estradiol	Hiperrespuesta* 17-OHP > 160 ng/dl
Supresión con estroprogestágenos 1 comprimido/24 h 1 mes	Basal y 8 h post	LH, FSH, estradiol Δ4, testosterona	Supresión adecuada si LH y FSH < 1U/l y estradiol < 20 pg/ml
Pubertad precoz y retrasada Acetato de leuprorelina (Procrin, 500 µg s.c. 1 dosis)	Basal, 3 h y 24 h	LH, FSH, estradiol	Respuesta puberal LH > 7 U/l y estradiol > 90 pg/ml

Δ4: androstendiona; FSH: hormona foliculoestimulante; LH: hormona luteinizante.

*Valores superiores al promedio + 2 DE de los valores en controles; sugestivo de hiperandrogenismo ovárico funcional.

repetirse en fibroblastos de piel. Es importante descartar la presencia de un cromosoma Y –por el conocido riesgo de desarrollar gonadoblastoma–, mediante técnicas fluorescentes de hibridación in situ (FISH), amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de marcadores del cromosoma Y o del gen *SRY*, responsable de la diferenciación testicular, o a partir de marcadores polimórficos de un solo nucleótido (SNP) para el cromosoma X^{48,49}. Aunque en líneas generales la detección de material cromosómico Y está indicada cuando existen signos clínicos de virilización o cuando se encuentra un fragmento de cromosoma sexual no identificable en el estudio citogenético, algunos autores defienden su búsqueda sistemática^{59,60}.

Fallo ovárico precoz

El fallo ovárico precoz es una entidad caracterizada por la existencia de amenorrea de más de 6 meses de duración asociada a niveles altos de FSH (≥ 40 mU/ml) en mujeres de menos de 40 años de edad⁶¹. El hipogonadismo hipergonadotropo que presentan estas pacientes se asocia en general a un cariotipo 46,XX normal. Sin embargo, estudios recientes con técnicas de FISH han demostrado la existencia de alteraciones estructurales crípticas del brazo largo del cromosoma X (Xq13-Xq26), como deleciones y translocaciones, hasta en un 8,8% de estas pacientes⁶². Estas anomalías cromosómicas podrían afectar a la expresión de genes específicos ligados al cromosoma X esenciales para el mantenimiento de la función ovárica, o alterar la inactivación del cromosoma X⁶³.

BIBLIOGRAFÍA

- Ibáñez L, Potau N. Hiperandrogenismo. En: Argente J, Carrasco A, Gracia R, Rodríguez F, editores. Tratado de Endocrinología Pediátrica y de la Adolescencia. Madrid: Editores Médicos SA; 2000. p. 1043-61.
- Ibáñez NP. Hiperandrogenismo: hirsutismo y ovario poliúístico. En: Pombo M, editor. Tratado de Endocrinología Pediátrica, 3.ª ed. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana; 2002. p. 880-96.
- Bukowsky Ch, Grigg MA, Longcope C. Sex Hormone-binding globulin concentration: differences among commercial available methods. Clin Chem. 2000;46:1415-6.
- Michelson KE, Petra PH. A filter assay for the sex steroid binding protein (SBP) of human serum. FEBS Lett. 1974;44:31-8.
- Jayagopal V, Kilpatrick ES, Jennings PE, Hepburn DA, Atkin SL. The biological variation of testosterone and sex hormone-binding globulin (SHBG) in polycystic ovarian syndrome: implications for SHBG as a surrogate marker of insulin resistance. J Clin Endocrinol Metab. 2003;88:1528-33.
- Rosenfield RL. Hirsutism. New Engl J Med. 2005;353:2578-88.
- Wang C, Catlin DH, Demers LM, Starcevic B, Swerdloff RS. Measurement of total serum testosterone in adult men: comparison of current laboratory methods versus liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89:534-43.
- Davison SL, Bell R, Donath S, Montalto J G, Davis SR. Androgen levels in adult females: changes with age, menopause, and oophorectomy. J Clin Endocrinol Metab. 2005;90:3847-53.
- Miller KK, Rosner W, Lee H, Hier J, Sesnilo G, Schoenfeld D, et al. Measurement of free testosterone in normal women and women with androgen deficiency: comparison of methods. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89:525-33.
- Morley JE, Patrick P, Perry HM 3rd. Evaluation of assays available to measure free testosterone. Metabolism. 2002;51:554-9.
- Reinhardt W, Patschan D, Pietruck F, Philipp T, Janssen OE, Mann K, et al. Free androgen index is superior to total testosterone for short-term assessment of the gonadal axis after renal transplantation. Horm Res. 2005;64:248-52.
- Burger HG, Igarashi M. Inhibin-definition and nomenclature, including related substances. J Clin Endocrinol Metab. 1988;66:885-6.
- Groome NP, Illingworth PJ, O'Brien M, Pai R, Mather JP, McNeilly AS. Measurement of dimeric inhibin B throughout the human menstrual cycle. J Clin Endocrinol Metab. 1996;81:1401-5.
- Sehested A, Juul A, Andersson AM, Petersen JH, Jensen TK, Müller J, et al. Serum inhibin A and inhibin B in healthy, prepubertal, pubertal and adolescent girls and adult women: relation to age, stage of puberty, menstrual cycle, follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, and estradiol levels. J Clin Endocrinol Metab. 2000;85:1634-40.
- Andersson AM, Toppari J, Haavisto AM, Petersen JH, Simell T, Simell O, et al. Longitudinal reproductive hormone profiles in infants: peak of inhibin B levels in infant boys exceeds levels in adult men. J Clin Endocrinol Metab. 1998;83:675-81.
- Chellakooty M, Schmidt IM, Haavisto AM, Boisen KA, Damgaard IN, Mau C et al. Inhibin A, inhibin B, follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, estradiol, and sex hormone-binding globulin levels in 473 healthy infant girls. J Clin Endocrinol Metab. 2003;88:3515-20.
- Crofton PM, Evans AE, Groome NP, Taylor MR, Holland CV, Kelnar CJ. Dimeric inhibins in girls from birth to adulthood: relationship with age, pubertal stage, FSH and oestradiol. Clin Endocrinol (Oxf). 2002; 56:223-30.
- Tinkanen H, Blauer M, Laippala P, Tuohimaa P, Kujansuu E. Correlation between serum inhibin B and other indicators of ovarian function. Eur J Obstet Gynecol. 2001;94:109-13.
- Cate RL, Mattaliano RJ, Hession C, Tizard R, Farber NM, Cheung A, et al. Isolation of the bovine and human genes for Müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells. Cell. 1986; 45:685-98.
- Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, Cranfield M, Groome NP, Visser JA, et al. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. Mol Hum Reprod. 2004;10:77-83.
- Rey R, Lukas-Croisier C, Lasala C, Bedecarras P. AMH/MIS: what we know about the gene, the protein and its regulation. Mol Cell Endocrinol. 2003;15:21-31.
- Durlinger AL, Gruitjers MJ, Kramer P, Karels B, Kumar TR, Matzuk MM, et al. Anti-Müllerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. Endocrinology. 2001;142:4891-99.
- Lee MM, Donahoe PK, Hasegawa T, Silverman B, Crist GB, Best S, et al. Müllerian inhibiting substance in humans: normal levels from infancy to adulthood. J Clin Endocrinol Metab. 1996;81:571-6.
- La Marca A, Volpe A. Anti-Müllerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool? Clin Endocrinol. 2006;64:603-10.
- Laven JE, Muldres AG, Visser JA, Themmen AP, De Jong FH, Fauser CJM. Anti-Müllerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89:318-23.
- Fanchin R, Schonauer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. Hum Reprod. 2003;18: 323-7.

27. Van Rooij IA, Broekmans FJ, Velde ER, Fauer BC, Bancsi LF, Jong FH, et al. Serum anti-Müllerian hormone levels: a novel measurement of ovarian reserve. *Hum Reprod.* 2002;17:3065-71.
28. Hazout A, Bouchard P, Seifer DB, Aussage P, Junca AM, Cohen-Bacrie P. Serum antimüllerian hormone/müllerian inhibiting substance appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than follicle-stimulating hormone, inhibin B, or estradiol. *Fert Steril.* 2004;82:1323-9.
29. Achermann JC. Development of the reproductive systems. En: Brook C, Clayton P, Brown R, editors. *Brook's Clinical Pediatric Endocrinology*, 5th ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2005. p. 153-70.
30. Hernández de la Calle I, Gussinyé M, Carrascosa A. Función ovárica. En: Argente J, Carrascosa A, Gracia R, Rodríguez F, editores. *Tratado de Endocrinología Pediátrica y de la Adolescencia*. Madrid: Editores Médicos SA; 2000. p. 945-65.
31. Klein KO, Mericq V, Brown-Dawson JM, Larmore KA, Cabezas P, Cortinez A. Estrogen levels in girls with premature thelarche compared with normal prepubertal girls as determined by an ultrasensitive recombinant cell bioassay. *J Pediatr.* 1999; 134:190-2.
32. Elmlinger MW, Kuhnel W, Ranke MB. Reference ranges for serum concentrations of luteinizing hormone (LH), follicle-stimulating hormone (FSH), estradiol (E2), prolactin, progesterone, sex hormone-binding globulin (SHBG), dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS), cortisol and ferritin in neonates, children and young adults. *Clin Chem Lab Med.* 2002; 40:1151-60.
33. Paris F, Servant N, Terouanne B, Balaguer P, Nicolas JC, Sultan C. A new recombinant cell bioassay for ultrasensitive determination of serum estrogenic bioactivity in children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:791-7.
34. Bay K, Andersson AM, Skakkebaek NE. Estradiol levels in prepubertal boys and girls – analytical challenges. *Int J Androl.* 2004;27:266-73.
35. Asunción M, Calvo RM, San Millán JL, Sancho J, Ávila S, Escobar-Morreale H. A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected Caucasian women from Spain. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:2434-8.
36. The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod.* 2004;19:41-7.
37. Ehrmann DA. Polycystic ovary syndrome. *New Engl J Med.* 2005;352:1223-36.
38. Ibáñez L, Potau N, Francois I, de Zegher F. Precocious pubarche, hyperinsulinism and ovarian hyperandrogenism in girls: relation to reduced fetal growth. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:3558-62.
39. Ibáñez L, Valls C, Potau N, Marcos MV, de Zegher F. Polycystic ovary syndrome after precocious pubarche: ontogeny of the low-birthweight effect. *Clin Endocrinol.* 2001;55:667-72.
40. Marshall JC. Obesity in adolescent girls: is excess androgen the real bad actor? *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:393-5.
41. Pasquali R, Gambineri A, Pagotto U. The impact of obesity on reproduction in women with polycystic ovary syndrome. *BJOG.* 2006;7:113:1148-59.
42. New MI, Lorenzen F, Lerner AJ, Kohn B, Oberfield SE, Pollack MS, et al. Genotyping steroid 21-hydroxylase deficiency: hormonal reference data. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983;56:320-5.
43. Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM. A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:3666-72.
44. Stricker R, Eberhart R, Chevailler MC, Quinn FA, Bischof P, Stricker R. Establishment of detailed reference values for luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, estradiol, and progesterone during different phases of the menstrual cycle on the Abbott ARCHITECT((R)) analyzer. *Clin Chem Lab Med.* 2006;44:883-7.
45. Ibáñez L, de Zegher F, Potau N. Anovulation after precocious pubarche: early markers and time course in adolescence. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:2691-5.
46. Ibáñez L, Potau N, Ferrer A, Rodríguez-Hierro F, Marcos MV, de Zegher F. Reduced ovulation rate in adolescent girls born small for gestational age. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:3391-3.
47. Crofton PM, Thomson AB, Evans AE, Groome NP, Bath LE, Kelnar CJ, et al. Is inhibin B a potential marker of gonadotoxicity in prepubertal children treated for cancer? *Clin Endocrinol (Oxf).* 2003;58:296-301.
48. Larsen EC, Müller J, Schmiegelow K, Rechnitzer C, Andersen AN. Reduced ovarian function in long-term survivors of radiation- and chemotherapy-treated childhood cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:5307-14.
49. AlQathani A, Muttukrishna S, Appasamy M, Johns J, Cranfield M, Visser JA. Development of a sensitive enzyme immunoassay for anti-Müllerian hormone and its evaluation of potential clinical applications in males and females. *Clin Endocrinol.* 2005;63:267-73.
50. Van Rooij IA, Tonkelaar I, Broekmans FJ, Looman CW, Scheffer GJ, De Jong FH, et al. Anti-Müllerian hormone is a promising predictor for the occurrence of menopausal transition. *Menopause.* 2004;11:601-6.
51. Fanchin R, Schonauer LM, Righini C, Frydman N, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod.* 2003;18: 328-32.
52. La Marca A, Orvieto R, Giulini S, Jasonni VM, Volpe A, De Leo V. Müllerian-inhibiting substance in women with polycystic ovary syndrome: relationship with hormonal and metabolic characteristics. *Fertil Steril.* 2004;82:970-2.
53. Lane AH, Lee MM, Fuller AF Jr, Kehas DJ, Donahoe PK, MacLaughlin DT. Diagnostic utility of Müllerian inhibiting substance determination in patients with primary and recurrent granulosa cell tumors. *Gynecol Oncol.* 1999;73:51-5.
54. Potau N, Ibáñez L, Sentís M, Carrascosa A. Sexual dimorphism in the maturation of the pituitary-gonadal axis, assessed by GnRH agonist challenge. *Eur J Endocrinol.* 1999;141:27-34.
55. Ibáñez L, Potau N, Zampolli M, Prat N, Gussinyé M, Saenger P, et al. Source localization of androgen excess in adolescent girls. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;79:1778-84.
56. Ibáñez L, Potau N, Zampolli M, Viridis R, Gussinyé M, Carrascosa A, et al. Use of leuprolide acetate response patterns in the early diagnosis of pubertal disorders: Comparison with the gonadotropin-releasing hormone test. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;78:30-5.
57. Saenger P, Albertsson-Wikland K, Conway GS, Davenport M, Gravholt CH, Hintz R, et al. Recommendations for the diagnosis and management of Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:3061-9.
58. Rosenfeld RG. A Shox to the system [editorial]. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:5672-3.
59. Álvarez-Nava F, Soto M, Sánchez MA, Fernández E, Lanes R. Molecular analysis of Turner syndrome. *J Pediatr.* 2003;142: 336-40.
60. Meng H, Hager K, Rivkees SA, Gruen JR. Detection of Turner syndrome using high-throughput quantitative genotyping. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:3419-22.
61. Massin N, Czernichow C, Thibaud E, Kuttann F, Polak M, Touraine P. Idiopathic premature ovarian failure in 63 young women. *Horm Res.* 2006;65:89-95.
62. Portnoi MF, Aboura A, Tachdjian G, Bouchard P, Dewailly D, Bourcigaux N, et al. Molecular cytogenetic studies of Xq critical regions in premature ovarian failure. *Hum Reprod.* 2006; 21:2329-34.
63. Prueitt RL, Chen H, Barnes RI, Zinn AR. Most X; autosome translocations associated with premature ovarian failure do not interrupt X-linked genes. *Cytogenet Genome Res.* 2002;97:32-8.