

Puesta al día: pruebas de laboratorio en Endocrinología y Nutrición

GONADOTROPINS (LH AND FSH) AND ADRENOCORTICOTROPIN (ACTH)

Gonadotropins (LH and FSH) and adrenocorticotropin (ACTH) are pituitary hormones regulated by the corresponding hypothalamic releasing factors. Gonadotropins are the main regulators of male and female gonadal functions and sexual hormone synthesis. Laboratory assessment of LH and FSH can be basal or stimulated by GnRH analogs, using immunoassay methods. In precocious puberty, hypogonadism or other pathological conditions affecting hypothalamic-pituitary-gonadal axis, LH and FSH measurement are useful and sensitive alone or together with sexual hormones (testosterone and estradiol) in order to establish the diagnosis. Corticotropin (ACTH) is another pituitary hormone which regulates adrenal steroid synthesis. Hormone release is pulsatile throughout the day, but exhibits a diurnal pattern with levels being the highest in the early morning. ACTH secretion increases in response to hypocortisolemia if the hypothalamus and pituitary gland are intact. Numerous factors affect interpretation of the ACTH test, including half-life, stability, glucocorticoid administration and vulnerability to cellular enzymes all of which must be taken into account. Immunoassay methods are reliable and different tests can be used to study hypothalamic-pituitary-adrenal axis secondary to deficiency or hyperfunction. Hormonal laboratory assessment has a valuable role to establish the diagnosis of the diseases affecting these peptides.

Key words: Gonadotropins. Luteinizing hormone (LH). Follicle-stimulating hormone (FSH). Corticotropin (ACTH). Gn-RH analogs.

Gonadotropinas (LH y FSH) y corticotropina (ACTH)

NEUS POTAU VILALTA Y ANA CARREÑO DE PUIG

Laboratorio Hormonal. Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron. Barcelona. España.

Las gonadotropinas (LH y FSH) y la corticotropina (ACTH) son hormonas hipofisarias reguladas por los factores hipotalámicos correspondientes. Las gonadotropinas regulan la función gonadal masculina y femenina, así como la síntesis de las hormonas sexuales. Su cuantificación se realiza por inmunoanálisis tanto basal como en respuesta a estímulos de análogos de la Gn-RH. Su estudio es útil en el diagnóstico de la pubertad precoz, en los hipogonadismos y en las diversas afecciones del eje hipotálamo-hipofiso-gonadal.

La corticotropina es otro péptido de origen hipofisario que ejerce su acción sobre la corteza suprarrenal estimulando la esteroidogénesis. Se secreta de forma pulsátil y presenta un ritmo circadiano característico, con un máximo de secreción por la mañana. La corta vida media, su inestabilidad, los tratamientos con corticoides y su vulnerabilidad a las enzimas celulares son factores a tener en cuenta en su valoración. Su cuantificación en plasma se realiza por inmunoanálisis, y su derivado sintético (ACTH 1-24) se utiliza como estímulo farmacológico para el estudio de la función hipotálamo-hipofiso-suprarrenal. Aunque el test de referencia es la hipoglucemia insulínica, por sus dificultades y contraindicaciones el test de estimulación con ACTH 1-24 se considera un método indirecto de detección de las alteraciones hipotálamo-hipofisarias. También ha sido utilizado para valorar la actividad enzimática suprarrenal y sus alteraciones congénitas, como la hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) o adquirida.

La participación del laboratorio hormonal es de gran utilidad en el diagnóstico de las enfermedades que afectan a dichos péptidos.

Palabras clave: Gonadotropinas. Lutropina. Folitropina. Corticotropina. Análogos de la gonadoliberina.

GONADOTROPINAS (LH Y FSH)

Las seis principales hormonas producidas por la hipófisis anterior son: corticotropina (ACTH), somatotropina (GH), prolactina y las hormonas glucoproteínicas que corresponden a la lutropina (LH), la folitropina (FSH) y la tirotropina (TSH). Trataremos en esta parte del artículo de la valoración bioquímica de LH, FSH y ACTH, basal y en respuesta a estímulos funcionales.

Las hormonas glucoproteínicas que controlan la función gonadal masculina y femenina y las hormonas sexuales se denominan gonadotropinas. Son miembros de una familia de hormonas hipofisarias que incluye la FSH y la LH. Otra hormona relacionada estructural y funcionalmente con la LH es la gonadotropina coriónica (hCG).

Correspondencia: Dra. A. Carreño de Puig.
Laboratorios Clínicos. Hospital Vall d'Hebron.
C/ Pg. Vall d'Hebron, 129. 08035 Barcelona. España.
Correo electrónico: npotau@vhebron.net

Manuscrito recibido el 12-7-2006 y aceptado para su publicación el 12-10-2006.

Acciones de la LH y la FSH

Las acciones de las gonadotropinas son conocidas desde hace muchos años. La principal acción de la FSH en la gónada femenina es la estimulación de la maduración del folículo. Los estadios iniciales del folículo se producen en ausencia de FSH, pero éste no es capaz de madurar completamente sin la presencia de FSH para dar lugar a la ovulación. La elevación fisiológica y el descenso de la concentración de FSH durante el desarrollo folicular tiene un papel fundamental en la selección del folículo que dará lugar a la ovulación en respuesta a la LH. La FSH actúa también en las células de la granulosa ovárica estimulando la actividad aromataza que convertirá los andrógenos en estrógenos¹.

En el testículo inmaduro, la FSH se requiere para iniciar la espermatogénesis al unirse a sus receptores en las células de Sertoli.

La acción principal de la LH es estimular la ovulación y la esteroidogénesis en las células tecaales ováricas y en las células de Leydig testiculares. Por lo tanto, la acción biológica de las gonadotropinas tiene lugar en el ovario y en el testículo, donde la FSH tiene un papel predominante en la maduración del folículo y en la regulación de la gametogénesis².

Secreción y estructura de las gonadotropinas

El control hipotalámico de la función hipofisaria está determinado por la hormona gonadoliberina (Gn-RH), un decapeptido aislado y caracterizado en 1971 por Schally y Guillemin. Aunque la Gn-RH estimula la secreción de LH y FSH in vivo e in vitro, hay evidencias fisiológicas que ponen de manifiesto diferencias entre ambas. Cuando se bloquea el receptor de Gn-RH, la secreción de LH disminuye inmediatamente en un 80-90%, mientras que la FSH disminuye sólo un 40-60%, lo que indica que otros factores, además de la Gn-RH, se encargan del control agudo de la FSH.

La secreción de Gn-RH se produce de una manera pulsátil, lo cual es indispensable para la secreción normal de gonadotropinas. La administración continua de Gn-RH conduce a una desensibilización de los receptores y a una disminución de la secreción de gonadotropinas que puede revertirse administrando Gn-RH de forma pulsátil. La desensibilización de los receptores hipofisarios mediante su ocupación permanente ha sido y es utilizada en tratamientos farmacológicos mediante agonistas de la Gn-RH para suprimir la secreción de gonadotropinas, como por ejemplo en la pubertad precoz³.

La FSH, la LH y la hCG son glucoproteínas estructuralmente relacionadas, ya que poseen una subunidad α común y una subunidad β específica de cada hormona. La subunidad α contiene 92 aminoácidos y está codificada por un gen situado en el brazo corto del cromosoma 6. Las subunidades β están codificadas por dos genes ubicados en el cromosoma 19 el de la

LH y en el cromosoma 13 el de la FSH. Ambas hormonas poseen moléculas de oligosacáridos en cantidad variable. La glucosilación es un proceso postranscripcional que se produce en el aparato de Golgi. Las hormonas almacenadas en gránulos son liberadas de forma pulsátil bajo el estímulo de la Gn-RH hipotalámica³.

Cuantificación de las gonadotropinas

En general, las determinaciones de LH y FSH se realizan por inmunoanálisis por su practicidad, aunque tienen la desventaja de que no informan de su actividad biológica.

El problema de la determinación de gonadotropinas deriva de su heterogeneidad molecular, la especificidad de los anticuerpos utilizados en el inmunoanálisis y la estandarización.

Los métodos empleados actualmente para su valoración son los inmunoanálisis, sean o no competitivos, y con diferentes marcadores, sean o no isotópicos. Los anticuerpos policlonales, a pesar de estar dirigidos contra la subunidad β , pueden tener reacciones cruzadas con la hCG, debido a la similitud estructural que presentan ambas subunidades.

Los métodos no competitivos utilizan dos anticuerpos, uno de ellos monoclonal. Estos métodos tienen mayores especificidad y sensibilidad, aunque sigue habiendo problemas derivados de las distintas formas moleculares existentes y las variaciones en la glucosilación de las moléculas y porque ningún anticuerpo reconoce los fragmentos de oligosacáridos de la molécula.

Los anticuerpos reconocen diferentes epitopos de la molécula, lo que hace que algunas formas moleculares no sean reconocidas, como ocurre con una variante molecular de la LH⁴. Otro factor a añadir es la diferencia de los estándares utilizados. El primero de ellos fue establecido por la OMS en 1959. Los más utilizados son IS 68/40 y el IS 80/552 para la LH y el 83/575 y 78/549 para la FSH. Sin embargo, en muchos sistemas no se utiliza el patrón internacional, sino patrones secundarios que añaden una nueva variabilidad al sistema. Por lo tanto, a pesar de que los análisis comerciales tienen aparentemente una elevada afinidad, todavía hay diferencias apreciables entre los resultados obtenidos por diferentes análisis para gonadotropinas⁵.

Se ha descrito una forma inmunológica anómala de LH en mujeres sanas, fértiles y con concentraciones normales de las demás hormonas. Algunos anticuerpos monoclonales específicos para el dímero α/β de la LH son incapaces de detectar la LH en el suero de estas mujeres. Sin embargo una combinación de anticuerpos o un bioanálisis in vitro detecta concentraciones normales de LH en dichas muestras. La alteración inmunológica se debe a dos mutaciones puntuales en el gen de la subunidad β de la LH. La pulsatilidad, la respuesta al estímulo de la Gn-RH y la acción biológica de esta forma aberrante de LH son normales, y sólo

la velocidad de eliminación está aumentada y su vida media, acortada.

La frecuencia de esta forma aberrante de LH en Finlandia es del 3,6% de las mutaciones homocigóticas y del 24,1% de las heterocigóticas. La prevalencia es ligeramente inferior en Suecia y sólo del 18% (monocigotos y heterocigotos) en el Reino Unido⁴.

Las determinaciones basales de LH y FSH a menudo están incluidas como primera evaluación del eje hipotálamo-hipofiso-gonadal en mujeres. Sin embargo, excepto en el caso de fallo primario gonadal con unas concentraciones de FSH ≥ 25 U/l, dichos análisis tienen poco valor diagnóstico. En la mujer y en las adolescentes puede sospecharse un síndrome del ovario poliquístico cuando las concentraciones plasmáticas de LH son más elevadas que las de FSH. El análisis de las gonadotropinas urinarias se ha empleado para estudios de investigación, por su escaso valor en la práctica clínica⁵.

Las determinaciones de LH y FSH pueden realizarse, además de por radioinmunoanálisis (RIA), por análisis inmunoradiométrico (IRMA)⁶ o más recientemente con análisis fluorométricos^{7,8} o por quimioluminiscencia⁹.

Un bolo intravenoso de Gn-RH pone de manifiesto la capacidad funcional de la glándula hipofisaria para secretar LH y FSH. En el período prepuberal, la inyección de Gn-RH genera una secreción muy pequeña de gonadotropinas. Durante la pubertad, la secreción aumenta gradualmente, en especial la de LH¹⁰.

Valores elevados de LH y FSH en respuesta a Gn-RH ponen de manifiesto una pubertad evolutiva. Este test es más utilizado en las niñas cuando se sospecha una pubertad precoz, aunque también tiene su interés en el estudio de la pubertad retrasada o en el hipogonadismo hipogonadotrópico.

En los análisis más sensibles, una respuesta de LH superior a 6,9 U/l tiene una sensibilidad del 92,2% para el diagnóstico de la pubertad precoz central⁸. Los valores basales y el pico de FSH tienen poco valor, excepto cuando se compara con la LH.

En un estudio¹⁰ realizado en una paciente con pubertad precoz tratada con un análogo de la Gn-RH, se constata la supresión del eje con una respuesta de LH al estímulo de Gn-RH (utilizando un inmunoanálisis con quimioluminiscencia) inferior a 2 U/l.

Anomalías funcionales

La exploración de la función gonadotrópica hipofisaria se realiza mediante la determinación de gonadotropinas en condiciones basales, en las primeras horas del sueño o tras estímulo con Gn-RH o con agonistas de la Gn-RH¹¹. Actualmente, la Gn-RH nativa (Luforan[®]) ha desaparecido de la farmacopea, por lo que la única alternativa es la utilización de análogos de la Gn-RH.

El aumento o la disminución de la secreción de gonadotropinas impropios de la edad dan lugar en el

TABLA 1. Alteraciones de la pubertad

1. Pubertad precoz central completa o dependiente de Gn-RH
Idiopática
Tumores del SNC (hamartoma, glioma, astrocitoma)
Otras alteraciones del SNC (malformaciones, infecciones, quistes, irradiación)
Tratamiento tardío de la HSC
2. Pubertad precoz periférica, incompleta o independiente de Gn-RH
a) <i>Fenotipo masculino</i>
Tumores secretores de gonadotropinas (corioepitelioma, teratoma, hepatoma)
Aumento de la producción de andrógenos suprarrenales o testiculares (HSC, testotoxicosis familiar)
b) <i>Fenotipo femenino</i>
Telarquia prematura benigna
Aumento de producción de andrógenos (suprarrenales u ováricos debido a quistes o tumores)
Síndrome de McCune-Albright
c) <i>Ambos sexos</i>
Pubarquia prematura
Iatrogénica
Hipotiroidismo

HSC: hiperplasia suprarrenal congénita; SNC: sistema nervioso central.

primer caso, si ello ocurre antes de los 8 años en la niña y de los 9 en el niño, a una pubertad precoz. Las alteraciones de la pubertad están sintetizadas en la tabla 1¹².

Elevados valores basales de gonadotropinas en pacientes en edad puberal, sin signos de desarrollo sexual, son característicos de hipogonadismo primario. En las disgenesias gonadales (síndrome de Turner, síndrome de Kallman, etc.), la elevación de la FSH es el parámetro diagnóstico más sensible y el que aparece más precozmente. Por el contrario, el hallazgo de valores basales bajos, indetectables incluso, es poco significativo, ya que no discrimina entre el retraso puberal constitucional y el fallo hipotálamo-hipofisario. El hallazgo de picos de LH en fase IV REM del sueño marca o indica el inicio de la pubertad, lo que no ocurre en el hipogonadismo hipogonadotrópico, por lo cual tiene utilidad para el diagnóstico de estas dos entidades, aunque tiene el inconveniente de que es un hallazgo tardío, ya que precede en sólo unos meses al comienzo de la pubertad y además su realización plantea problemas técnicos, como es el ingreso hospitalario. Por el contrario, que en la edad biológica adecuada para el desarrollo puberal no se produzcan ni la activación de la Gn-RH ni el aumento de las gonadotropinas es señal de una pubertad retardada o, si es permanente, de un hipogonadismo hipogonadotrópico. La clasificación de los hipogonadismos hipogonadotrópicos y los hipergonadotrópicos secundarios a la afección primaria de la gónada están resumidos en la tabla 2¹³.

Recientemente se ha descrito la etiología genética de varios hipogonadismos hipogonadotrópicos, como es el gen *KAL*¹⁴ en el síndrome de Kallman. Mutaciones en el gen *PROPI* dan lugar a un panhipopituitarismo con déficit de LH y FSH, así como mutaciones del

TABLA 2. Clasificación del hipogonadismo

Hipogonadismo hipogonadotrópico
1. Transitorio
Retardo puberal simple
Anorexia nerviosa
Ejercicio físico intenso (gimnasia, ballet)
2. Permanente
Panhipopituitarismo congénito o adquirido
Tumores craneales
Déficit de gonadotropinas aislado
Síndromes malformativos (de Prader Willi, Laurence Moon Bield, etc.)
Hipogonadismo hipergonadotrópico
1. Fenotipo femenino
Síndrome de Turner (45X0, X0/XX, X0/XXX y otros)
Disgenesia gonadal XY (síndrome de Swyer)
Síndrome de Noonan
Hipogonadismo autoinmunitario
Secundario a radioterapia
2. Fenotipo masculino
Anorquia
Síndrome de Klinefelter (XXY y variantes)
Disgenesia gonadal mixta y pura (X0/XY, XY)
Bloqueos en la síntesis de la testosterona
Síndrome de Noonan (síndrome de Turner masculino)
Síndromes malformativos (Leopard, Smith-Lemli-Opitz, etc.)
Castración traumática o quirúrgica
Orquitis bilateral
Insuficiencia de las células de Leyding

gen *HESX-1*¹⁵. Las mutaciones en el gen del receptor de Gn-RH dan lugar a hipogonadismos hipogonadotrópicos familiares. También las mutaciones en el gen *DAX1*, además de producir hipoplasia suprarrenal, se asocian a hipogonadismo hipogonadotrópico¹⁶.

La diferencia entre la deficiencia de gonadotropinas y el retraso constitucional de la pubertad ha sido problemático especialmente en varones. Estudios clásicos han demostrado que un adulto con déficit de gonadotropinas presenta una respuesta (LH, FSH y testosterona) al estímulo con un análogo de Gn-RH muy inferior al del adulto normal¹⁷. Posteriormente otros estudios han puesto de manifiesto que los análogos de la Gn-RH (acetato de leuprolida, nafarelina, etc.) estimulan el eje hipofiso-gonadal con mayor potencia que la Gn-RH nativa, para el diagnóstico tanto de la pubertad precoz como de la pubertad retardada. Los pacientes con pubertad evolutiva o con pubertad precoz central presentaron una respuesta de LH > 8 U/l, lo que se acompañaba de una respuesta gonadal ya sea de testosterona en el varón o de estradiol en la mujer, cuando los valores diagnósticos de presencia de pubertad para la testosterona son de 3,15 nmol/l (90,7 ng/dl) y para el estradiol, de 159 pmol/l (40,8 pg/ml)¹⁸.

En otro estudio se establecieron los valores de referencia en los cinco estadios de Tanner en ambos sexos de la respuesta hipofisaria y gonadal tras la estimulación con el agonista de la Gn-RH acetato de leuprolida. La LH y la FSH aumentaron significativamente a las 3 h del estímulo, al inicio de la pubertad en ambos sexos, estimulándose también la FSH en las niñas en el período prepuberal. La respuesta de la LH en los úl-

timos estadios puberales es superior en el sexo femenino que en el masculino⁹. Se cuantificaron también los aumentos de testosterona y estradiol en varones y mujeres respectivamente, en los estadios puberales, así como la respuesta de la 17-hidroxiprogesterona característica de la gónada masculina en el estadio V de Tanner⁹.

Pruebas funcionales

Podemos considerar que el estímulo del eje hipofiso-gonadal con un análogo de la Gn-RH nos da la información de su funcionalidad, aunque hay que tener en cuenta el método utilizado para las cuantificaciones hormonales con el fin de establecer para cada laboratorio los valores de referencia^{19,20}.

Test de estimulación con análogos de la Gn-RH

La administración aguda de un análogo de la Gn-RH^{9,18} (acetato de leuprolida, comercialmente denominado Procrin®, 500 µg vía subcutánea) determina un estímulo potente y secuencial de las gonadotropinas hipofisarias y de los esteroides gonadales. Se ha comprobado que el máximo estímulo hipofisario tiene lugar a las 3 h de su administración y la máxima respuesta gonadal a las 20-24 h. Se realizan dos extracciones de sangre (basal y a las 3 h) para las determinaciones de LH y FSH, y otra extracción a las 24 h para determinar LH, FSH y estradiol (en niñas) o testosterona (en niños).

Los valores normales para esta prueba dependen de la edad y el estadio puberal^{9,18}.

Test del análogo de Gn-RH en el estudio del hiperandrogenismo femenino

La administración aguda de un análogo de la Gn-RH determina un estímulo potente de los andrógenos y de la 17-hidroxiprogesterona de secreción ovárica²¹. Consiste en la extracción de sangre para la determinación basal de LH, FSH, 17-hidroxiprogesterona, androstendiona, DHEA y estradiol. Se administra Procrin® en una dosis única de 500 µg por vía subcutánea y se repite la extracción a las 24 h para determinar los mismos parámetros.

La respuesta de la 17-hidroxiprogesterona a las 24 h de la administración del análogo es significativamente más elevada en el hiperandrogenismo ovárico funcional que en el de otros orígenes (≥ 160 ng/dl)²¹.

Corticotropina

La corticotropina es un péptido de 39 aminoácidos secretado desde la hipófisis en una gran cadena aminoacídica llamada proopiomelanocortina (POMC), péptido de 241 aminoácidos cuyo gen está localizado en el cromosoma 2²². A partir de la POMC por un procesamiento postranscripcional, se produce, además de la ACTH, la melanotropina (MSH), la hormona lipotrófica y la betaendorfina.

La regulación de la secreción de ACTH depende de múltiples estímulos, y el factor hipotalámico estimulante de la corticotropina, la corticoliberina (CRH), es el principal regulador.

Una de las características de la secreción de ACTH es su ritmo circadiano, regulado por los ciclos de luz-oscuridad. La concentración de ACTH está en su punto más bajo alrededor de medianoche y aumenta progresivamente hasta alcanzar un pico matinal y declina después lentamente. Tiene un ritmo relativamente inverso al de la secreción de GH. El estrés inducido por dolor, temor, fiebre e hipoglucemia también estimula la secreción de ACTH y se puede usar en la clínica para evaluar la funcionalidad del eje.

Estructura química de la ACTH

La ACTH es un polipéptido de 39 aminoácidos cuya secuencia varía según las especies. De los 39 aminoácidos, sólo 13 tienen actividad biológica conocida. Los restantes determinan la actividad inmunitaria.

En el hombre la secuencia de aminoácidos es la siguiente: Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Try-Gly-Lys-Pro-Val-Gly-Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Val-Lys-Val-Tyr-Pro-Asp-Ala-Gly-Glu-Asp-Glu-Ser-Ala-Glu-Ala-Phe-Pro-Leu-Glu-Phe-OH.

Acción de la ACTH

La ACTH estimula dos de las tres zonas de la corteza suprarrenal, que son la zona fascicular donde se secretan los glucocorticoides (cortisol y corticosterona) y la zona reticular que produce andrógenos como la deshidroepiandrosterona (DHEA) y la androstendiona. La ACTH facilita, aunque no es necesaria, la síntesis y secreción de mineralocorticoides.

La ACTH es sintetizada por células basófilas de la hipófisis anterior o adenohipófisis bajo la acción de la CRH²³.

La estimulación de la síntesis de ACTH se produce en situaciones de estrés físico o psicológico que estimulan intensamente la secreción del factor hipotalámico CRH. Por medio de la ACTH se induce la liberación de glucocorticoides (cortisol) (fig. 1). También estimulan la síntesis de ACTH otras hormonas como la arginina-vasopresina (AVP), las catecolaminas, la angiotensina II, la serotonina, la oxitocina, el péptido natriurético auricular (ANF), la colecistoquinina y el péptido vasoactivo intestinal (VIP), entre otros. La regulación de la secreción de CRH es poco conocida, aunque se sabe que la noradrenalina la inhibe y la serotonina la estimula^{24,25}. La CRH es un potente estimulador de la zona reticular suprarrenal y produce un aumento de deshidroepiandrosterona sulfato, lo que no ocurre administrando ACTH exógena²⁶.

Inversamente, hay un retrocontrol negativo realizado por el cortisol, que se une a los receptores del hipotálamo e inhibe la secreción de CRH. El cortisol actúa igualmente sobre la hipófisis bloqueando la liberación de ACTH a la circulación sanguínea (fig. 1).

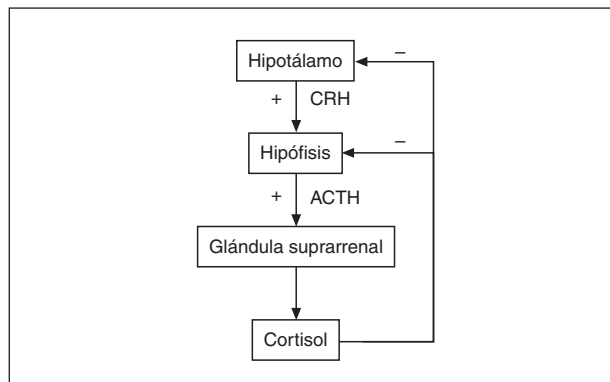


Fig. 1. Regulación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal.

Mecanismo de acción de la ACTH

La ACTH se fija a los receptores de membrana de la glándula corticosuprarrenal y esta unión produce un aumento de la concentración intracelular de adenosinmonofosfato cíclico (AMPc) que activa la adenilciclase, que a su vez activa la enzima P450_{scc} a cargo de la transformación del colesterol en pregnenolona, primer paso de la esteroidogénesis. La ACTH también estimula la transcripción de la proteína StAR, que transporta el colesterol libre al interior de la mitocondria, así como las demás enzimas necesarias para la esteroidogénesis²⁷.

El período de semidesintegración de la ACTH en la sangre humana es de unos 10 min.

Utilidad del análisis de concentración de ACTH

El análisis de ACTH se usa como indicador de la función hipofisaria y es útil en el diagnóstico diferencial de la enfermedad de Addison²⁸, la hiperplasia suprarrenal congénita y el síndrome de Cushing.

Efecto de la disminución de la secreción de ACTH

La ACTH regula la secreción de cortisol y andrógenos adrenales. En ausencia de ACTH, ocurre una disminución de la secreción de cortisol que conduce a hipoglucemia y debilidad. En los varones, el déficit de andrógenos suprarrenales no es clínicamente aparente debido a la alta tasa de secreción de andrógenos testiculares, pero en las mujeres la deficiencia de ACTH puede llevar a disminución del vello axilar y púbico y a disminución de la libido. Los síntomas más importantes se deben al déficit de cortisol.

La concentración de ACTH plasmático es el mejor test para distinguir la insuficiencia suprarrenal primaria de la secundaria. La secreción de ACTH es pulsátil y aumenta en respuesta al hipocortisolismo si el hipotálamo y la hipófisis están intactos (fig. 1).

En la insuficiencia suprarrenal primaria, los valores de ACTH son invariablemente superiores a 100 pg/ml.

Sin embargo, las concentraciones de ACTH basales aisladas no diferencian a los individuos normales de los que presentan una probada alteración primaria de la hipófisis con valores similares, 4-81 y 8-75 pg/ml, respectivamente²⁹.

Prueba de estimulación con ACTH (SYNACTHEN®)

La ACTH es el agente regulador primario de la producción de glucocorticoides por la glándula suprarrenal y participa en la secreción de andrógenos suprarrenales. El tetracosactin (Synacthen 1-24) es un polipéptido sintético que contiene los primeros 24 aminoácidos de la molécula original de ACTH. La prueba de estimulación con ACTH fue introducida por Wood et al³⁰ y Greig et al³¹, que determinaban el cortisol plasmático a los 30 min de una dosis de 250 µg de ACTH 1-24 en pacientes con enfermedad de Addison o con tratamiento prolongado con glucocorticoides. Fueron Speckart et al³² quienes propusieron la prueba de ACTH como más sensible para el estudio de la función hipofisaria administrando vía intravenosa 250 µg de ACTH y determinando el cortisol plasmático a los 60 min de la inyección. A una conclusión similar llegaron Kehlet y Binder³³, que consideraron que los resultados obtenidos con dicha prueba eran similares a los de la hipoglucemia insulínica.

Se utiliza en el diagnóstico de insuficiencia suprarrenal primaria. El test es de utilidad asimismo en la insuficiencia suprarrenal secundaria o terciaria, ya que el déficit crónico de CRH/ACTH o su desregulación pueden ocasionar la ausencia de respuesta (transitoria) de la suprarrenal y, por lo tanto, del cortisol a un estímulo agudo.

Los valores basales de cortisol están sujetos a variaciones nictamerales. Se determina la 17-hidroxiprogesterona, 17-hidroxipregnenolona y 11-desoxicortisol junto con otros andrógenos suprarrenales (DHEA-S y androstendiona) si hay sospecha de hiperplasia suprarrenal congénita (HSC).

Se espera que con la dosis estándar el incremento de la concentración de cortisol dé una respuesta máxima de 22 µg/dl. El incremento suele ser de 2 a 3 veces el valor basal.

El estudio comporta el riesgo de depleción salina en pacientes con síndromes de pérdida de sal, y está contraindicada en casos de embarazo e hipersensibilidad conocida a la ACTH.

Actualmente muchos investigadores proponen la utilización de la prueba con dosis bajas de ACTH (1 µg) para el diagnóstico de la insuficiencia suprarrenal parcial o leve, como ocurre al inicio del déficit de ACTH, ya que aumenta la sensibilidad diagnóstica, aunque no todos los autores concuerdan con dicha opinión^{34,35}.

Por lo tanto, la administración de dosis menores, o sea, más fisiológicas, mejoraría la sensibilidad diagnóstica, aunque su empleo es menos generalizado.

Finalmente, podemos concluir que la estimulación con ACTH 1-24 (250 µg) seguida de una extracción de sangre a los 60 min para la determinación de cortisol es una prueba válida, cómoda, con escasos riesgos, de bajo coste y muy útil para el estudio de la función adrenal³⁶. Junto con las determinaciones de andrógenos y de 17-hidroxiprogesterona, también es la prueba indicada para descartar el diagnóstico de la HSC por déficit de la 21-hidroxilasa en su forma clínica no clásica o tardía.

HIPOGLUCEMIA INSULÍNICA (THI)

Es la prueba reconocida como de referencia, considerada como un potente estímulo para la secreción de cortisol mediante la activación hipotalámica e hipofisaria. Se ha descrito un significativo número de pacientes que presentan una respuesta normal al estímulo de cortisol tras un bolo de 250 µg de ACTH 1-24 y una respuesta claramente anómala a la prueba de THI³⁷.

Consiste en administrar insulina rápida (0,1 U/kg). Esta dosis se debe reducir a la mitad si se sospecha de insuficiencia suprarrenal y se debe incrementar hasta 0,15-0,2 U/kg en pacientes con obesidad. Requiere que el paciente esté en ayunas, y se realizan extracciones a los 0, 10, 20, 30, 60 y 90 min. En condiciones normales, la glucemia desciende a la mitad y las concentraciones de cortisol se elevan 2-3 veces su valor basal (≥ 22 µg/dl).

Como ya se ha dicho, está reconocida y aceptada como la prueba de referencia de la función del eje hipotálamo-hipofiso-suprarrenal. Desafortunadamente, es una prueba cara, desagradable, con riesgos y contraindicada en algunos pacientes, lo cual hace que su utilización deba ser muy ponderada en la indicación clínica.

La prueba de la metopirona, que se basa en detectar la integridad del mecanismo de control del eje, también es muy sensible en el estudio de la función hipotálamo-hipofiso-suprarrenal, pero tiene su limitación en que es necesario determinar el 11-desoxicortisol (prueba no disponible en muchos laboratorios) y además puede inducir una insuficiencia suprarrenal aguda³⁷.

Efecto del exceso de ACTH

Los tumores productores de ACTH inducen una estimulación tónica sin ritmo circadiano ni regulación de las glándulas suprarrenales y producen una hiperplasia de éstas. Esto lleva a la hipersecreción de cortisol y de andrógenos suprarrenales, que son la causa de las manifestaciones clínicas.

La mayoría de las veces, los tumores productores de ACTH cosecretan melanotropina, que a su vez pigmenta la piel.

El síndrome característico de la hipersecreción de corticotropina es el conocido como enfermedad de Cushing³⁸. La causa más frecuente de síndrome de

Cushing es la iatrogénica por administración prolongada de corticoides o de corticotropina. La forma endógena más común es la enfermedad de Cushing debida a macroadenomas o microadenomas hipofisarios secretores de ACTH.

El síndrome de Cushing representa uno de los problemas de mayor dificultad diagnóstica en la endocrinología³⁹.

El exceso de ACTH conlleva una hipersecreción de cortisol que clínicamente se traduce en obesidad troncular, hipertensión arterial, fatiga, debilidad muscular, amenorrea, hirsutismo, estrías, edemas, intolerancia a la glucosa, osteoporosis y trastornos psiquiátricos.

El diagnóstico bioquímico se basa en las siguientes pruebas: determinación de cortisol libre en orina, frenación con dexametasona, ritmo nictameral de cortisol, cuantificación de la ACTH plasmática, prueba de estimulación con CRH y cateterización de los senos petrosos.

La medida de la excreción de cortisol libre en orina de 24 h es el método más eficaz para demostrar la hipersecreción de cortisol³⁸. Cuando se realiza la determinación por inmunoanálisis previa extracción con un solvente orgánico, los valores de referencia suelen situarse en 20-100 µg/24 h. La prueba tiene una sensibilidad del 95-100% y una especificidad del 98%³⁹.

Frenación con dexametasona

La dexametasona es un glucocorticoide sintético de gran potencia. Suprime la secreción hipofisaria de ACTH por un mecanismo de recontrol contrarregulación negativa del eje hipotálamo-hipofisario por los corticoides. Este test está limitado al diagnóstico de hipercorticismos tumorales primarios y en ciertas formas de HSC.

Este test consta de tres pautas distintas según la enfermedad que se quiera determinar:

Prueba estándar (larga). Indicada en el estudio de la capacidad de suprimir los estados que cursan con un exceso de producción de andrógenos. Consiste en una extracción basal de cortisol y recogida previa de orina de 24 h para determinar cortisol en orina. A continuación se administra dexametasona vía oral (2 mg/m²/día) repartido cada 6-8 h durante 3 días. Al cuarto día se realiza una extracción para determinar el cortisol y se recoge orina para determinar también cortisol urinario. Esta prueba puede prolongarse con un test de supresión a altas dosis de dexametasona de 8 mg/m²/día cada 6 h los días quinto y sexto. En sujetos normales, las concentraciones plasmáticas de cortisol y andrógenos suprarrenales se suprimen con la pauta de dosis bajas de dexametasona, efectivos que no se observa en pacientes afectados de síndrome de Cushing. Durante la pauta de dosis altas, el 90% de los pacientes con síndrome de Cushing corticodependiente logran frenación, mientras que en los pacientes con adenoma adrenal, carcinoma o síndrome de secreción ectópica de ACTH no se consigue la supresión.

Supresión con dexametasona a dosis bajas. Utilizado para el cribado sencillo del síndrome de Cushing, consiste en determinar los niveles de cortisol a las 8:00 h, después de administrar una dosis única de 1 mg de dexametasona a las 23:00 o las 24:00 h y repetir la extracción a las 8:00 h del día siguiente para determinar el cortisol⁴⁰⁻⁴².

En sujetos normales, las concentraciones plasmáticas de cortisol disminuyen a menos de 5 µg/dl, mientras que en el síndrome de Cushing permanecen por encima de 10 µg/dl. Puede producirse un fallo en la supresión en los sujetos normales a causa de estrés, enfermedad intercurrente, obesidad, trastorno psiquiátrico como la depresión y tratamiento con estrógenos.

Supresión con dexametasona a dosis altas. Consiste en el mismo protocolo anterior pero con dosis de dexametasona de 8 mg/m²/día. En sujetos normales, las concentraciones plasmáticas de cortisol disminuyen por debajo de 5 µg/dl. En la enfermedad de Cushing la concentración plasmática de cortisol se reduce más de un 50% de la basal en casi un 95% de los pacientes. En síndromes de secreción ectópica de ACTH o en tumores adrenales, esta supresión es menos marcada o prácticamente no se produce.

Ritmo nictameral de cortisol

Una característica precoz del síndrome de Cushing es la pérdida del ritmo circadiano de la ACTH y el cortisol, por lo que la determinación de sus concentraciones nocturnas puede corroborar el diagnóstico³⁸. Consiste en la determinación en condiciones basales de cortisol a las 8:00 y las 20:00 h.

Concentración de ACTH en plasma

Su determinación en condiciones basales es útil para clasificar el síndrome de Cushing dependiente o independiente de ACTH, ya que en este último caso los valores de corticotropina son indetectables.

Cuando el proceso es dependiente de la ACTH los valores están aumentados, aunque en algunas ocasiones pueden encontrarse dentro de los valores de referencia. Cuando la ACTH procede de secreción ectópica, las concentraciones son mucho más elevadas que en la enfermedad de Cushing secundaria a tumor hipofisario.

Los valores de referencia de la ACTH dependen por supuesto del inmunoanálisis utilizado, pero entre las 7:00 y las 9:00 h el intervalo aproximado es de 10-60 pg/ml.

La corta vida media de la ACTH, su inestabilidad y su vulnerabilidad a la acción enzimática hacen recomendable la extracción en frío y su centrifugación en el laboratorio a 4 °C.

Prueba de secreción de cortisol tras corticoliberina

Se valora la capacidad de respuesta hipofisaria ante el estímulo con CRH⁴³. Los tumores hipofisarios se-

cretores de ACTH se estimulan con su acción, ya que poseen receptores para la hormona hipotalámica. Por el contrario, no se observa respuesta en las otras causas de síndrome de Cushing.

La prueba consiste en administrar 1 µg/kg (máximo, 100 µg) y determinar cortisol y ACTH en los momentos -15, 0, 15, 30, 60, 90 y 120 min.

En situaciones de hipofunción se produce una respuesta exagerada de ACTH en la disfunción hipotalámica y una débil respuesta cuando la alteración es hipofisaria³⁷. Como reacciones secundarias, produce rubefacción y, raramente, taquipnea.

Cateterización de los senos petrosos

Finalmente, la prueba más específica para el diagnóstico etiológico es el cateterismo de los senos petrosos y la cuantificación de ACTH en las muestras extraídas de los senos petrosos y en vena periférica^{40,41}. El gradiente de concentraciones nos indicará el origen de la producción de ACTH. Puede realizarse la prueba combinada con la administración de CRH, lo cual aumenta la sensibilidad⁴⁴.

BIBLIOGRAFÍA

- Gharib SD, Wierman ME, Shupnik MA, Chin WW. Molecular biology of the pituitary gonadotropins. *Endocr Rev.* 1990;11:177-99.
- Rose MP, Gaines Das RE, Balen AH. Definition and measurement of follicle stimulating hormone. *Endocr Rev.* 2000;21:5-22.
- Bechetz PE, Plant TM, Nakai Y, Keogh EJ, Knobil E. Hypophysial responses to continuous and intermittent delivery of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone. *Science.* 1978;202:631-3.
- Haavisto AM, Pettersson K, Bergendahl M, Virkamäki A, Huhtaniemi I. Occurrence and biological properties of a common genetic variant of luteinizing hormone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80:1257-63.
- Demir A, Dunkel L, Stenman UH, Voutilainen R. Age-related course of urinary gonadotropins in children. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80:1457-60.
- Thijssen JH, Wood WG, Kessler AC, Griesser HW, Bauer O, Bieglmayer C, et al. Multicenter evaluation of new enzyme-linked immunoassays of follitropin and lutropin in serum and plasma. *Clin Chem.* 1991;37:1257-63.
- Sehested A, Juul A, Andersson AM, Petersen JH, Jensen T, 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.
- Brito VN, Batista MC, Borges MF, Latronico AC, Kohek MBF, Thirone ACP, et al. Diagnostic value of fluorometric assays in the evaluation of precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:3539-44.
- Potau N, Ibáñez L, Sentis M, Carrascosa A. Sexual dimorphism in the maturation of pituitary-gonadal axis, assessed by GnRH agonist challenge. *Eur J Endocrinol.* 1999;141:27-34.
- Cavallo A, Zhou XH. LHRH test in the assessment of puberty in normal children. *Horm Res.* 1994;41:10-5.
- Lawson ML, Cohen N. A simple subcutaneous luteinizing hormone (LH)-releasing hormone (LHRH) stimulation test for monitoring LH suppression in children with central precocious puberty receiving LHRH agonists. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:4536-40.
- Kaplan SL, Grumbach MM. Clinical Review 14. Pathophysiology and treatment of sexual precocity. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;71:785-9.
- Grumbach MM, Conte FA. Disorders of sex differentiation. En: Wilson JD, Foster DW, editors. *Williams test Book of Endocrinology.* Philadelphia: WB Saunders; 1992. p. 853-951.
- Seminara SB, Hayes FJ, Crowley Jr WF. Gonadotropin-releasing hormone deficiency in the human (idiopathic hypogonadotropic hypogonadism and Kallman's syndrome): pathophysiological and genetic considerations. *Endocr Rev.* 1998;19:521-39.
- Dattani MT, Martinez-Barbera JP, Thomas PQ, Brickman LM, Gupta R, Mätersson IL, et al. Mutations in the homeobox gene HESX1/Hex 1 associated with septo-optic dysplasia in human and mouse. *Nature Genet.* 1998;19:125-33.
- Guo W, Burris TP, Zhang YH, Huang BL, Mason J, Copeland KC, et al. Genomic sequence of DAX 1 gene: an orphan nuclear receptor responsible for X-linked adrenal hypoplasia congenita and hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81:2481-6.
- Garibaldi LR, Picco P, Mafier S, Chevli R, Aceto T. Serum luteinizing hormone concentrations as measured by a sensitive immunoradiometric assay, in children with normal, precocious or delayed pubertal development. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;72:888-98.
- Ibáñez L, Potau N, Zampolli M, Virdis 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.
- Alfayate R, Mauri M, Pico AM. ¿Qué medimos al utilizar RIA o IRMA para determinar la LH circulante? *Endocrinología.* 1995;42:275-7.
- Milsom SR, Sowter MC, Carter MA, Knox BS, Gunn AJ. LH levels in women with polycystic ovarian syndrome: have modern assays made them irrelevant? *BJOG.* 2003;110:760-4.
- 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.
- Owerbach D, Riutter WJ, Roberts JL, Whitfield P, Shine J, Seeburg PH, et al. The propiocortin (adrenocorticotropin/b-lipotropin) gene is located on chromosome 2 in humans. *Somat Cell Genet.* 1981;7:359-69.
- Spieß J, Rivier J, Rivier C, Vale W. Primary structure of corticotropin-releasing factor from ovine hypothalamus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1981;78:6517-21.
- Guillemin R, Rosenberg B. Humoral hypothalamic control of anterior pituitary: study with combined tissue cultures. *Endocrinology.* 1955;57:599-607.
- Saffran M, Schally AV. The release of corticotrophin by anterior pituitary tissue in vitro. *Can J Biochem Physiol.* 1955;33:408-15.
- Ibáñez L, Potau N, Marcos MV, De Zegher F. Corticotropin-releasing hormone as adrenal androgen secretagogue. *Pediatr Res.* 1999;46:351-3.
- Stocco DM, Clark BJ. Regulation of the acute production of steroids in steroidogenic cells. *Endocr Rev.* 1996;17:221-4.
- Ten S, New M, Maclaren N. Addison's disease 2001. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:2909-22.
- Oelkers W, Diederich S, Bahr V. Diagnosis and therapy surveillance in Addison's disease: rapid adrenocorticotropin (ACTH) test and measurement of plasma ACTH, renin activity, and aldosterone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;75:259-64.

30. Wood JB, Frankland AW, James VHT, Landon J. A rapid test of adrenocortical function. *Lancet*. 1965;1:243-5.
31. Greig WR, Browning MCK, Boyle JA, Maxwell JD. Effect of the synthetic polypeptide beta 1-24 (Synacthen) on adrenocortical function. *J Endocrinol*. 1966;34:411-2.
32. Speckart PF, Nicoloff JT, Bethune JE. Screening for adrenocortical insufficiency with Cosyntropin (synthetic ACTH). *Arch Intern Med*. 1971;128:761-3.
33. Kehlet H, Binder C. Value of an ACTH test in assessing hypothalamic-pituitary-adrenocortical function in glucocorticoid-treated patients. *Br Med J*. 1973;2:147-9.
34. Mayenknecht J, Diederich S, Bahr V, Plockinger U, Oelkers W. Comparison of low and high dose corticotropin stimulation tests in patients with pituitary disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83:1558-62.
35. Weintrob N, Sprecher E, Josefberg Z, Weininger C, Aurbach-Kippler Y, Lazard D, et al. Standard and low-dose short adrenocorticotropin test compared with insulin-induced hypoglycemia for the assessment of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in children with idiopathic multiple pituitary hormone deficiencies. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83:88-92.
36. Nye EJ, Grice JE, Hockings GI, Strakosch CR, Crosbie GV, Walters MM, et al. Comparison of adrenocorticotropin (ACTH) stimulation tests and insulin hypoglycemia in normal humans: low dose, standard high dose, and 8-hour ACTH-(1-24) infusion tests. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84:3648-55.
37. Grinspoon SK, Biller BM. Laboratory assessment of adrenal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;79:923-31.
38. Orth DN. Cushing's syndrome. *N Eng J Med*. 1995;332:791-803.
39. Trainer PJ, Grossman A. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol*. 1991;34:317-30.
40. Tsigos C, Chrousos GP. Differential diagnosis and management of Cushing's syndrome. *Ann Rev Med*. 1996;47:443-61.
41. Boscaro M, Barzon L, Fallo F, Sonino N. Cushing's syndrome. *Lancet*. 2001;357:783-91.
42. Kaltsas GA, Isidori AM, Kola BP, Skelly RH, Chew SL, Jenkins PJ, et al. The value of the low-dose dexamethasone suppression test in the differential diagnosis of hyperandrogenism in women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:2634-43.
43. Newell-Price J, Morris DG, Drake WM, Korbonits M, Monson JP, Besser GM, et al. Optimal response criteria for the human CRH test in the differential diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:1640-5.
44. Lienhardt A, Grossman AB, Dacie JE, Evanson J, Huebner A, Afshar F, et al. Relative contributions of inferior petrosal sinus sampling and pituitary imaging in the investigation of children and adolescents with ACTH-dependent Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:5711-4.