

Niveles circulantes de subunidad alfa de FSH-h, FSH y LH en sangre periférica durante el ciclo menstrual y después de la estimulación con hormona sintética liberadora de gonadotropinas (LH-RH)¹.

Jaime Saavedra S., M. D.² y Keith Mashiter, Ph. D.³

RESUMEN

La concentración de la subunidad alfa de FSH-h se midió en suero durante el ciclo menstrual normal y durante la administración de LH-RH el primero y segundo días de la menstruación. En ciclos menstruales normales se encontró que la subunidad alfa de la FSH-h circula en forma independiente y coincide su máxima producción con el pico de LH y FSH a mitad del ciclo. La concentración de ésta durante la fase folicular no fue diferente de la observada durante la fase lútea del ciclo. La respuesta a la administración de diferentes concentraciones de LH-RH (10 µg y 100 µg) es un incremento en los niveles circulantes de la subunidad alfa de FSH relacionados con el aumento que se produce en LH y FSH.

Las hormonas glicoproteicas (LH, FSH, HCG y TSH) están formadas por dos subunidades que no son idénticas ni covariantes¹⁻³. La primera, subunidad alfa, es química e inmunológicamente similar en las cuatro; la segunda, subunidad beta, es distinta en todas ellas, y responsable de la especificidad biológica e inmunológica de las hormonas⁴.

Hasta la fecha se han encontrado subunidades libres en extractos de hipófisis fetales y de adultos⁵⁻⁹, con o sin estimulación hipofisiaria con LH-RH¹⁰⁻¹² tanto en el suero como en la orina^{5,13}.

En el momento hay poca información sobre las concentraciones de las subunidades alfa y beta de las hormonas gonadotrópicas en la sangre periférica en el curso del ciclo menstrual o después de la estimulación con LH-RH durante fases definidas del ciclo en mujeres ovulatorias normales^{14,15}.

El objeto de este estudio es determinar los niveles sanguíneos de la subunidad alfa de la hormona foliculoestimulante humana (FSH-h) en el ciclo menstrual normal y bajo el estímulo con diferentes concentraciones de LH-RH, el primero y segundo días de la menstruación.

PACIENTES Y METODOS

Pacientes. Para medir los niveles de FSH, LH y subunidad alfa de FSH-h en la sangre periférica, se tomaron muestras de ésta diariamente en 5 mujeres normales (17 a 32 años de edad) entre las 10:00 y 15:00 horas, desde el último día de la menstruación hasta el segundo día del siguiente ciclo. Antes de iniciar el estudio las 5 mujeres habían tenido por lo menos 3 ciclos menstruales regulares en forma consecutiva (28-32 días). La ovulación y la función normal del cuerpo lúteo se confirmaron en cada ciclo al medir los valores séricos de progesterona.

Durante los 2 primeros días de la menstruación del mismo ciclo se inyectó intravenosamente a estas mujeres LH-RH (Relefact®) en un solo bolo (10 µg el primer día y 100 µg el segundo día). Se tomaron muestras de sangre después de la inyección a -15, 0, 30 y 60 minutos. La sangre se dejó coagular hasta por un máximo de 48 horas. En la mayoría de los casos el tiempo fue menor de 8 horas, y la muestra se centrifugó después a 2 000 rpm por 5 minutos. El suero se congeló y se almacenó a -20°C hasta el ensayo. Todas las muestras de una misma paciente se procesaron en un solo radioinmunoensayo.

Radioinmunoensayo para LH, FSH y subunidad alfa de FSH-h. Hormona luteinizante (LH). La LH se midió por el procedimiento de doble anticuerpo modificado por Marshall¹⁶. La solución estándar se hizo con la LH hipofisiaria

1. Trabajo realizado en el Laboratorio Frances Fraser del Hospital Hammersmith de Londres, Unidad de Endocrinología, Departamento de Medicina Interna, Royal Postgraduate Medical School, con apoyo financiero de la Organización Mundial de la Salud (OMS).
2. Profesor Auxiliar, Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia.
3. Endocrinologist, Senior Lecturer in Medicine and Chemical Pathology Royal Postgraduate Medical School Hammersmith Hospital, London, U.K.

humana MCR 69/104. Como hormona rastreadora se utilizó la LH hipofisiaria purificada ICR-2-69 que suministró el Profesor Butt. El primer anticuerpo se preparó con gonadotropina coriónica humana ("Pregnyl") inyectada en conejillos de Indias, a una dilución inicial 1:75 000 (dilución final 1: 375 000). Como segundo anticuerpo precipitante se usó IgG de burro anti-conejillo de Indias (suministrada por el Departamento de Bioquímica de la Universidad de Surrey, U.K.) a una dilución inicial de 1:15.

El coeficiente de variación para muestras dobles dentro del ensayo fue menor de 8% y entre ensayos de 12%. El rango de LH en suero para adultos normales establecido en el laboratorio (Frances Fraser Laboratory, Hammersmith Hospital, London, U. K.) fue de 2.0 a 8.0 mUI/ml.

La Figura 1 muestra la curva estándar típica para el ensayo de la LH.

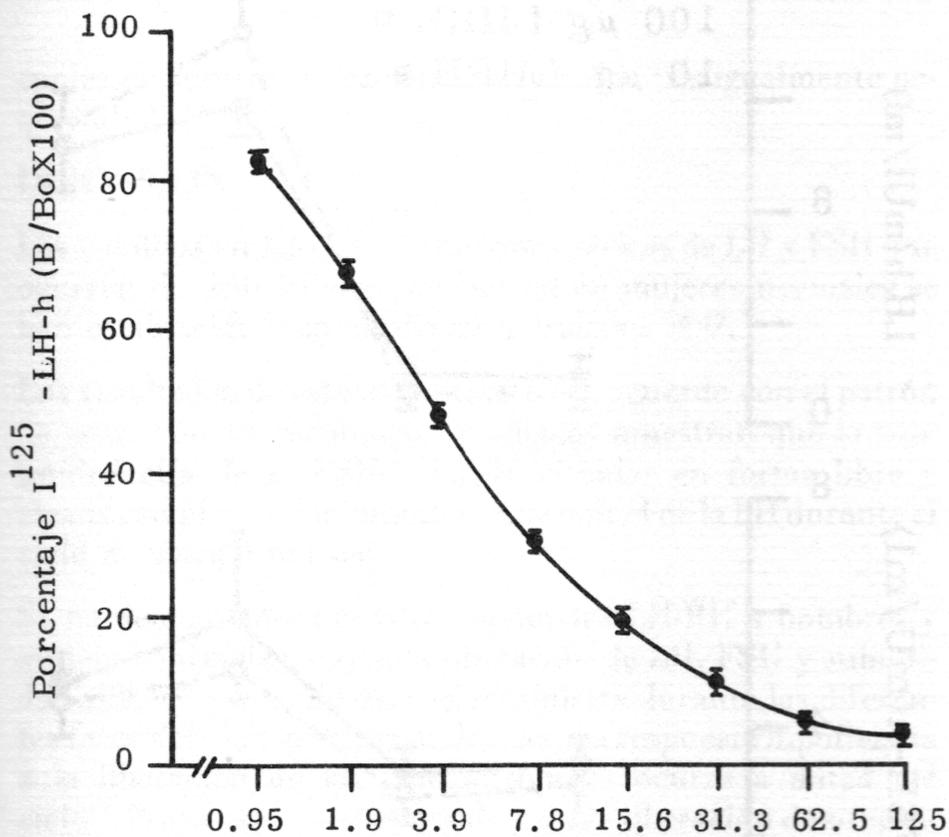


Figura 1. Curva estándar típica para el radioinmunoensayo de la LH-h. Como estándar se utilizó LH/FSH 69/104.

Hormona foliculoestimulante (FSH). La FSH se midió por el radioinmunoensayo de doble anticuerpo modificado por Marshall¹⁶. En la solución estándar se utilizó la preparación hormonal MCR 69/104. Como hormona rastreadora se empleó la preparación FSH-CPDS-2 suministrada por el Profesor Butt.

El primer anticuerpo (conejo anti-FSH) también lo suministró el Profesor Butt y se utilizó a una dilución inicial de 1:200 000 (dilución final: 1: 1 000 000). El segundo anticuerpo precipitante fue IgG de burro, anti-conejo (Universidad de Surrey, U. K., despacho HP/D41-IC), a una dilución inicial 1:40.

El coeficiente de variación para muestras dobles dentro de un mismo ensayo fue de 7% y 15% en diferentes ensayos. El rango de FSH establecido para adultos normales en el laboratorio (Frances Fraser Laboratory Hammersmith Hospital, London, U. K.) fue de 1.6 a 8.6 mUI/ml. La Figura 2 muestra

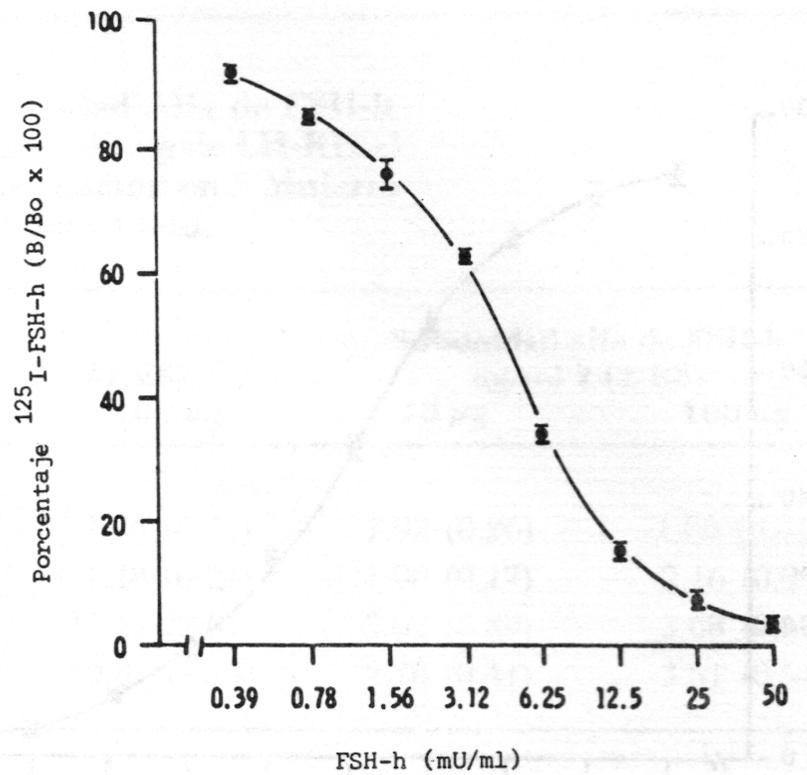


Figura 2. Curva estándar típica para el radioinmunoensayo de la FSH-h.

una curva estándar típica para el radioinmunoensayo de la FSH.

Subunidad alfa de FSH-h. La subunidad alfa de FSH-h se midió por el radioinmunoensayo de doble anticuerpo, con la técnica descrita en una comunicación previa¹⁷. La subunidad alfa de FSH-h la suministró el Dr. A. F. Parlow (National Institute of Arthritis, Metabolism and Digestive Diseases, National Pituitary Agency, USA). La preparación de la subunidad alfa de FSH-h se empleó tanto para la iodación como para hacer las diluciones estándares.

El primer anticuerpo, conejo antisubunidad alfa de FSH-h, suministrado por el Dr. Parlow, se utilizó a una dilución inicial de 1:40 000 (final de 1:200 000). El segundo anticuerpo precipitante fue la gammaglobulina de burro, anti-conejo, suministrada por la Universidad de Surrey, U. K., a una dilución de 1:50.

La cantidad de subunidad alfa de FSH-h que se puede leer en la curva estándar varía entre 0.8 y 50 ng/ml (Figura 3). El coeficiente de variación para muestras dobles dentro del ensayo fue de 7% y de 15% entre ensayos.

RESULTADOS

En la Figura 4 se observa el promedio de los niveles séricos (\pm ESM) de LH, FSH y subunidad alfa de la FSH-h durante el ciclo menstrual en 5 mujeres normales. Todos los valores fueron normalizados en relación con el día del pico de la LH (día 0). Los resultados muestran que durante la fase folicular los valores de la subunidad alfa de FSH-h fluctúan entre 2 y 3 ng/ml; algunas de estas fluctuaciones son consistentes con las observadas para LH y FSH. En el día -2 hay una inflexión que sugiere un pico preovulatorio, pues se observa un incremento significativo ($P < 0.05$) entre el día -1 y el día 0 (elevación en mitad del ciclo) en la concentración de LH, FSH y subunidad alfa de FSH-h con una declinación significativa ($P < 0.05$) de estas hormonas desde el día 0 al día +1. Durante la fase lútea declinan los niveles de la subunidad alfa de FSH-h a valores que fluctúan entre 2 y 3 ng/ml.

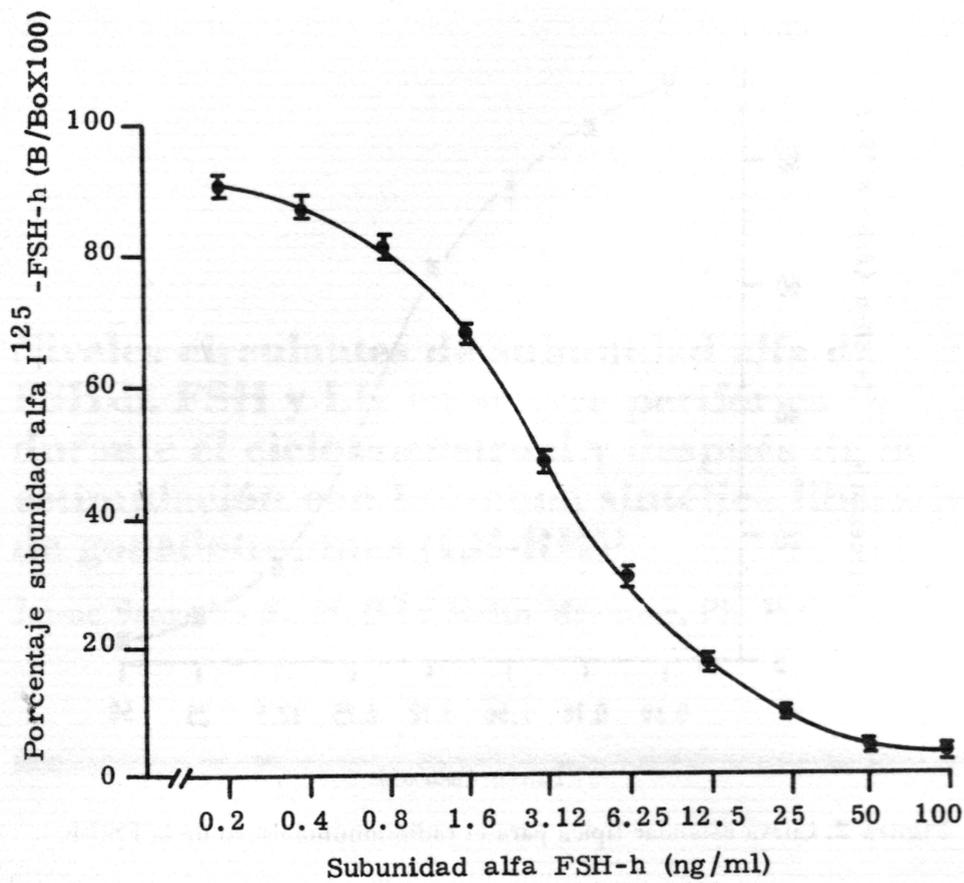


Figura 3. Curva estándar típica del radioinmunoensayo de la subunidad alfa de FSH-h.

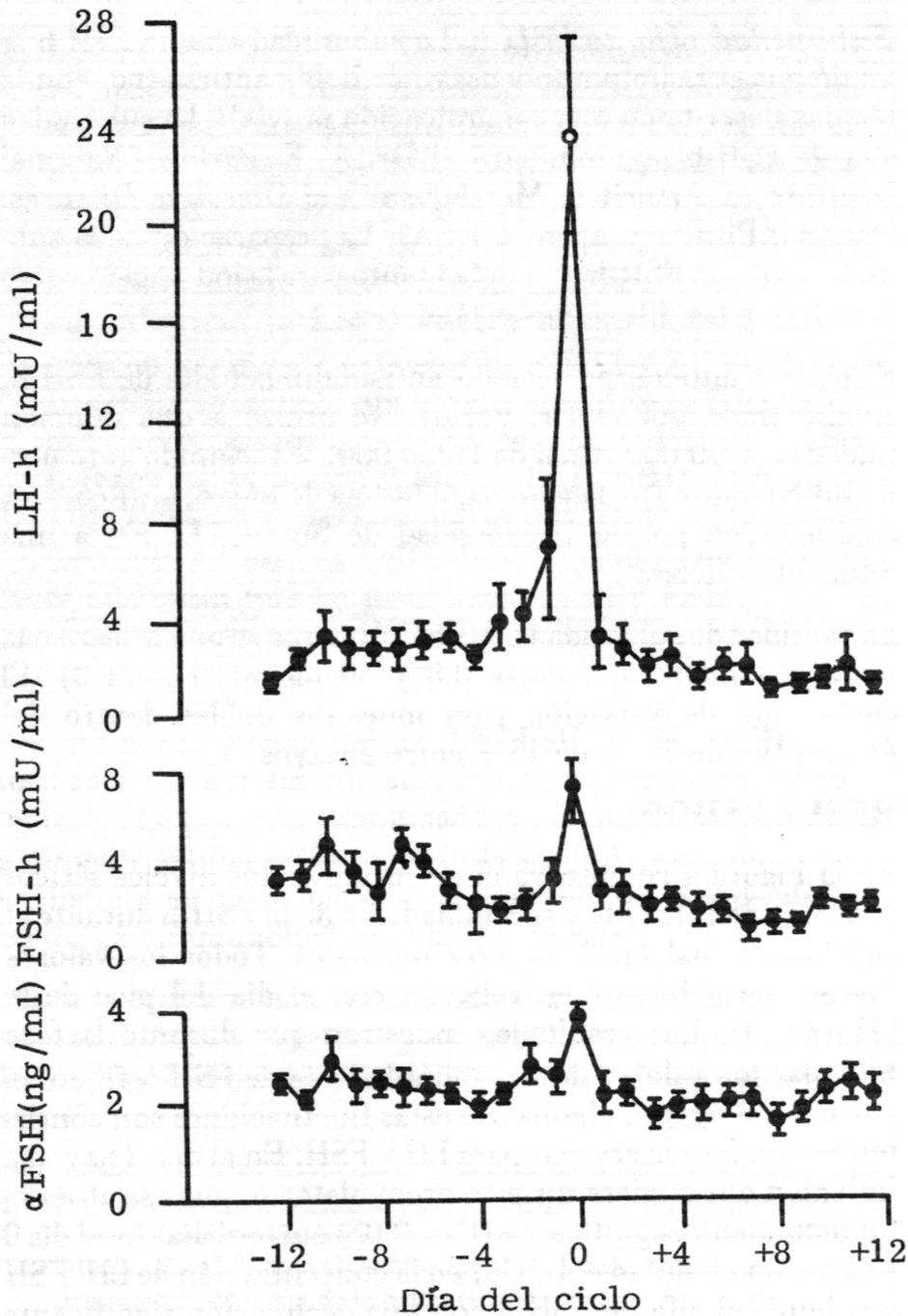


Figura 4. Niveles de LH, FSH y subunidad alfa de FSH-h durante el ciclo menstrual en mujeres normales. Los resultados representan el promedio \pm ESM de 5 mujeres, siendo centrados en el pico de LH como el día "0".

La concentración sérica (\pm ESM) de LH, FSH y subunidad alfa de FSH-h presenta un incremento significativo ($P < 0.001$) a los 30 y 60 minutos de la inyección intravenosa de $10 \mu\text{g}$ y $100 \mu\text{g}$ de LH-RH.

Los valores más altos se registraron a los 30 minutos de la estimulación LH, FSH y subunidad alfa de FSH-h con $10 \mu\text{g}$ y $100 \mu\text{g}$ y fueron: 12.04 y 15.12 mUI/ml; 6.02, 5.02, 3.62 y 3.68 ng/ml respectivamente (Cuadro 1, Figura 5).

No se observó ninguna diferencia estadística ($P > 0.5$) en la respuesta hormonal a estimulación con $10 \mu\text{g}$ ó $100 \mu\text{g}$ de LH-RH (Cuadro 1, Figura 5).

Es importante anotar que aunque es pequeño el número de pacientes que se estudiaron para la investigación, los resultados estadísticos están de acuerdo con otros trabajos en los

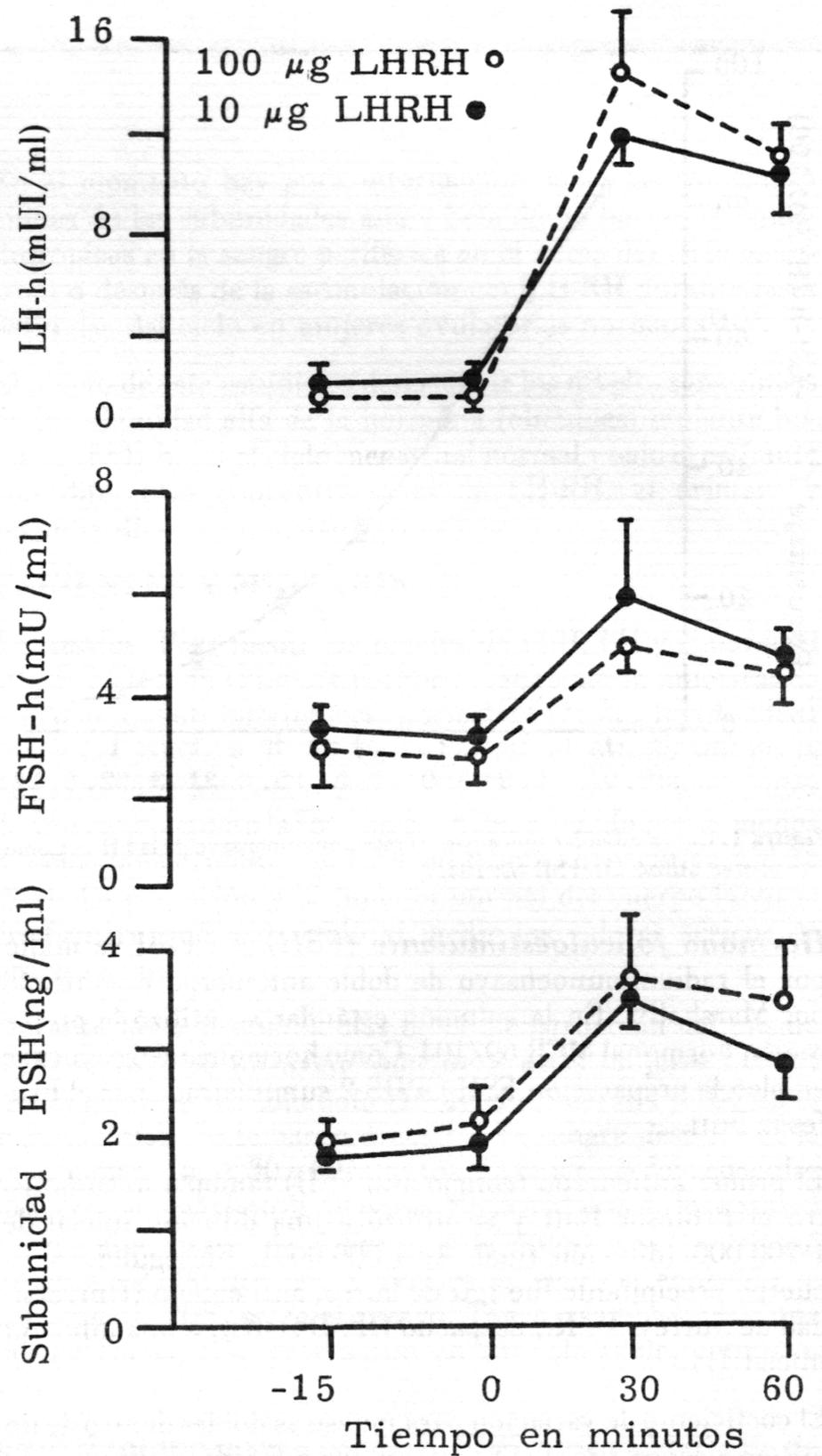


Figura 5. Niveles de LH, FSH y subunidad alfa de FSH-h en 5 mujeres normales después de estimulación con LH-RH durante el primero y segundo días de la menstruación ($10 \mu\text{g}$ el primer día y $100 \mu\text{g}$ el segundo día).

Cuadro 1
Niveles Séricos de FSH, LH y Subunidad Alfa de FSH-h
Después de Estimulación con 10 µg y 100 µg de LH-RH el
Primero y Segundo Días de la Menstruación en 5 Mujeres
Normales durante un Mismo Ciclo.

Tiempo (minutos)	FSH mUI/ml \bar{x} (\pm ES)		LH mUI/ml \bar{x} (\pm ES)		Subunidad alfa de FSH-h ng/ml \bar{x} (\pm ES)	
	10 µg	100 µg	10 µg	100 µg	10 µg	100 µg
-15	3.26 (0.53)	2.74 (0.56)	2.2 (0.7)	1.76 (0.41)	1.92 (0.26)	1.86 (0.31)
0	2.90 (0.59)	2.8 (0.55)	1.6 (0.47)	1.48 (0.24)	1.90 (0.17)	2.16 (0.29)
30	6.02 (1.55)	5.02 (0.86)	12.04 (1.3)	15.12 (2.0)	3.62 (0.39)	3.68 (0.61)
60	4.46 (0.81)	4.44 (0.74)	9.96 (1.47)	10.6 (1.74)	2.78 (0.41)	3.51 (0.54)

cuales el número de pacientes utilizados fue igualmente pequeño^{11, 15, 26-30}.

DISCUSION

Los cambios en las concentraciones séricas de LH y FSH que ocurren durante el ciclo menstrual en mujeres normales se han establecido bien en diversos trabajos¹⁸⁻²².

Los resultados de este estudio están de acuerdo con el patrón de secreción ya reconocido y además muestran que la subunidad alfa de la FSH-h puede circular en forma libre y alcanza su pico concomitantemente con el de la LH durante el ciclo menstrual normal.

Se ha demostrado que si se administra LH-RH a hombres y mujeres normales, hay una liberación de LH, FSH y subunidad alfa^{12, 23} y cuando ésta se administra durante las diferentes fases del ciclo menstrual, la máxima respuesta hipofisiaria a la liberación de las gonadotropinas ocurre a mitad del ciclo²⁴. No se conoce el estímulo para la liberación de subunidades. En sujetos normales parece que es independiente de la liberación de las hormonas intactas^{23, 25} y es probable que el alza en los niveles circulantes de las subunidades se deba a una secreción de la glándula hipofisiaria más que a una disociación de la hormona íntegra²⁵.

Por tanto, si la liberación de gonadotropinas es controlada por la LH-RH se podrá asumir que el aumento de la subunidad alfa de la FSH-h observado a la mitad del ciclo menstrual, representa la respuesta de la hipófisis al estímulo endógeno o exógeno de LH-RH.

CONCLUSIONES

1. Están bien establecidos los cambios en las concentraciones séricas de LH-FSH durante el ciclo menstrual normal^{1, 14, 18, 20}. Los resultados del presente estudio están de acuerdo con el patrón reconocido de secreción de estas hormonas. Este estudio también demuestra que la subunidad alfa de FSH-h circula en forma libre con concentraciones altas a la mitad del ciclo menstrual, coincidiendo con el pico de LH y FSH y con valores que fluctúan entre 2 y 3 ng/ml en la fase folicular y lútea del ciclo menstrual normal.

2. Se demuestra en este trabajo que la respuesta a la administración de LH-RH en la etapa folicular temprana del ciclo (días 1 y 2 de la menstruación) si se utilizan 10 µg y 100 µg es prácticamente idéntica, lo cual lleva a concluir que no hay necesidad de dosis altas de LH-RH en la prueba de estimulación hipofisiaria, pues con dosis tan bajas como 10 µg se obtienen resultados igualmente satisfactorios, y hay además una disminución en los costos de la prueba.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su gratitud a los miembros del personal y colegas del Instituto de Obstetricia y Ginecología, Unidad de Endocrinología en el Departamento de Medicina Interna, Royal Postgraduate Medical School, Hospital Hammersmith, Londres, sin cuya ayuda este trabajo no hubiera sido posible.

Hay un reconocimiento especial por el estímulo y apoyo recibidos de los profesores Alvaro Cuadros (Cali, Colombia) y M. G. Elder (Londres).

SUMMARY

The concentration of alpha subunit of human FSH (h-FSH) was measured in serum throughout normal menstrual cycles, and when LH-RH was administered the first and second days of the menstruation. In normal cycles alpha h-FSH subunit was showed to circulate in the free form with highest concentration occurring at the time of midcycle peak of LH and FSH. The concentration of the alpha h-FSH subunit during the follicular phase was not significantly different from the one observed during the luteal phase of the cycle.

The response to the administration of different concentrations of LH-RH (10 µg and 100 µg) is an increase in circulating levels of alpha h-FSH subunit directly related to the increases in LH and FSH.

REFERENCIAS

1. Pierce, J. G.: The subunits of pituitary thyrotropin, their relationship to other glycoprotein hormones. *Endocrinology*, 1971, **89**: 1331-1344.
2. Saxena, B. B. y Rathnam, P.: Dissociation phenomenon and subunit nature of follicle stimulating hormone from human pituitary gland. *J Biol Chem*, 1971, **246**: 3549-3554.

3. Stockell, H. A., Thomas, M., Braikeivitch, M. **et al.**: Preparation and properties of subunits of human luteinizing hormone. **J Endocrinol**, 1971, **59**: 169-180.
4. Vaitukaitis, J. L. y Ross, G. T.: Antigenic similarities among the human glycoprotein hormones and their subunits. Pp. 435-443, **In Gonadotropins**, 1972. B. B. Saxena, C. G. Beling and H. M. Gandy (eds.) New York, Wiley Intersciences.
5. Prentice, G. L. y Ryan, R. J.: LH and its subunits in human pituitary, serum and urine. **J Clin Endocrinol Metab**, 1975, **40**: 303-312.
6. Kourides, I. A., Weintraub, B. D., Ridgway, E. C. y Maloof F.: Pituitary secretion of free alpha and beta subunit of human thyrotropin in patients with thyroid disorders. **J Clin Endocrinol Metab**, 1975, **40**: 872-885.
7. Hagen, C. y Mc Neilly, A. S.: Identification of human luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, luteinizing hormone β subunit and gonadotropin α subunit in fetal and adult pituitary glands. **J Endocrinol**, 1975, **67**: 49-57.
8. Kaplan, S. L., Grumbach, M. M. y Aubert, M. L.: Alpha and β glycoprotein hormone subunits (hLHm, hFSH, hHCG) in the serum and pituitary of the human fetus. **J Clin Endocrinol Metab**, 1976, **42**: 995-998.
9. Seitis, I. Z., Lipson, L. G. y McArthur, J. W.: Immuno reactive luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and their subunits in tissue culture media from normal and adenomatous human pituitary fragments. **J Clin Endocrinol Metab**, 1977, **45**: 1271-1280.
10. Laburthe, M. C., Dolais, J. R. y Rosselin, G. E.: Evidence for circulating α subunits of pituitary gonadotropins in plasma. **J Clin Endocrinol Metab**, 1973, **37**: 156-162.
11. Benveniste, R., Frohman, L. A., Bell, J., Spitz, I. y Rubinovitz, D.: Alpha subunits of glycoprotein hormone presence in peripheral serum after LH-RH. **Eur J Clin Invest**, 1975, **5**: 123-127.
12. Hagen, C. y Mc Neilly, A. S.: Changes in circulating levels of LH, FSH, LH β and α subunit after gonadotropin releasing hormone, and TSH, LH β and α subunit after thyrotropin releasing hormone. **J Clin Endocrinol Metab**, 1975, **41**: 466-470.
13. Beitins, I. Z., Derfel, R. L., O'Loughin, K. y McArthur, J. W.: Immuno-reactive luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and their subunits in human urine following gel filtration. **J Clin Endocrinol Metab**, 1977, **44**: 149-159.
14. Hagen, C., McNatty, K. P. y Mc Neilly, A. S.: Immunoreactive α and β subunits of luteinizing hormone in human peripheral blood and follicular fluid through the menstrual cycle, and their effect on the secretory rate of progesterone by human granulosa cells in tissue culture. **J Endocrinol**, 1976, **69**: 33-46.
15. Rosenberg, E. y Bulat, G.: Immunoreactive α and β subunits of follicle stimulating and luteinizing hormones in peripheral blood throughout the menstrual cycle and following stimulation with syntetic gonadotropin releasing hormone (GnRH). **J Endocrinol Invest**, 1979, **2**: 233-239.
16. Marshall, J. C.: **Luteinizing hormone secretion. Studies in normal subjects and endocrine disease.** Thesis, Hammersmith Hospital, London, U. K. pp: 77-89, 1973.
17. Saavedra, S. J. y Mashiter, K.: Radioinmunoensayo nuevo para la subunidad alfa de las hormonas hipofisarias. **Colombia Med**, 1984, **15**: 98-104.
18. Ross, G. T., Gargille, C. M., Lipsett, M. B. **et al.**: Pituitary and gonadal hormones in women during spontaneous and induced ovulatory cycle. **Recent Prog Horm Res**, 1970, **26**: 1-18.
19. Yen, S. S. C., Vela, P., Ranking, J. y Littell, A. S.: Hormonal relationship during the menstrual cycle. **JAMA**, 1970, **211**: 1513-1517.
20. Mishell, D. R., Nakamura, R. M., Crosignani, P. G. **et al.**: Serum gonadotropin and steroid patterns during the normal menstrual cycle. **Am J Obstet Gynecol**, 1971, **111**: 60-65.
21. Abraham, G. E., Odell, W. D., Swerdloff, R. S. y Hopper, K.: Simultaneous radioimmunoassay of plasma FSH, LH, progesterone, 17-hydroxiprogesterone and stradiol-17 during the menstrual cycle. **J Clin Endocrinol Metab**, 1972, **34**: 312-318.
22. Sherman, B. M. y Korman, S. G.: Hormonal characteristics of human menstrual cycle throughout reproductive life. **J Clin Invest**, 1975, **55**: 699-705.
23. Hagen, C. y Mc Neilly, A. S.: The specificity and application of a radioimmunoassay for the α subunit of luteinizing hormone in man. **Acta Endocrinol (Kbh)**, 1975, **78**: 664-674.
24. Rosenberg, E., Purohit, P. y Takekida, H.: Variation in pituitaria responsiveness to synthetic gonadotropin releasing hormone (GnRH) during different phases of menstrual cycle. **Reproduction**, 1974, **1**: 241-245.
25. Edmonds, M., Molich, M., Pierce, J. G. y Odell, W. D.: Secretion of alfa subunits of luteinizing hormone (LH) by the anterior pituitary. **J Clin Endocrinol Metab**, 1975, **41**: 551-555.
26. Franchimont, P., Becker, Ch., Ernould, Ch., Thys, A., Demoulin, J. P. y Bourguignon, J. J.: The effect of hypothalamic luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) on plasma gonadotropin levels in normal subjects. **Clin Endocrinol**, 1974, **3**: 27-39.
27. Butt, W. R., London, D. R. y Marshall, J. C.: Variation in response to synthetic luteinizing hormone. Releasing hormone (LH-RH) at different phases of the same menstrual cycle in normal women. **J Obstetric Gynaecol Br Comm**, 1974, **81**: 632-639.
28. Styne, M. D., Conte, F. A., Grumbach, M. M. y Kaplan, S. L.: Plasma glycoprotein hormone α subunit in the syndrome of gonadal dysgenesis: The effect of strogen replacement in hypergonadotropic hypogonadism. **J Clin Endocrinol Metab**, 1980, **50**: 1049-1052.
29. Styne, D. M., Kaplan, S. L. y Grumbach, M. M.: Plasma glycoprotein hormone α subunit in the neonate and prepubertal and pubertal children: Effects of luteinizing hormone- releasing hormone. **J Clin Endocrinol Metab**, 1980, **50**: 450-455.
30. Seppala, M. y Wahlstrom, T.: Identification of luteinizing hormone-releasing factor and alpha subunit of glycoprotein hormones in human pancreatic islets. **Life Sci**, 1980, **27**: 395-397.