

AVALIAÇÃO LABORATORIAL DOS HORMÔNIOS SEXUAIS

Marcelo Cidade Batista

Laboratório de Hormônios LIM/42

Disciplina de Endocrinologia

Divisão de Laboratório Central LIM/03

Hospital das Clínicas

Faculdade de Medicina da USP

**Quais são os hormônios
sexuais?**

Hormônios Sexuais

- Andrógenos
- Estrógenos
- Progestágenos

Andrógenos

- Testosterona
 - Andrógeno mais potente e abundante
 - Secretada pelas células de Leydig dos testículos
- Andrógenos menos potentes
 - ✓ Dehidroepiandrosterona
 - ✓ Dehidroepiandrosterona-sulfato
 - ✓ Androstenediona

Andrógenos

Funções

- Diferenciação da genitália externa masculina na vida fetal
- Maturação sexual de meninos na puberdade
- Início e manutenção da espermatogênese
- Controle do comportamento sexual masculino na vida adulta

Estrógenos

- Estradiol
 - Estrógeno mais potente e abundante
 - Secretado pelas células da granulosa dos folículos ovarianos e também pelo corpo lúteo
- Estrógenos menos potentes
 - ✓ Estrona
 - ✓ Estriol

Estrógenos

Funções

- Indução de caracteres sexuais secundários em meninas na puberdade
- Crescimento do útero
- Proliferação do endométrio na 1.^a metade do ciclo menstrual
- Espessamento da mucosa vaginal
- Produção de muco cervical aquoso

Progestágenos

- **Progesterona**
 - Principal progestágeno secretado pelo corpo lúteo dos ovários e pela placenta
- **Progestágenos menos importantes**
 - ✓ Pregnenolona
 - ✓ 17-hidroxiprogesterona

Progestágenos

Funções

- Indução da secreção e decidualização do endométrio
- Implantação do ovo e manutenção da gravidez
- Inibição das contrações uterinas
- Desenvolvimento glandular das mamas

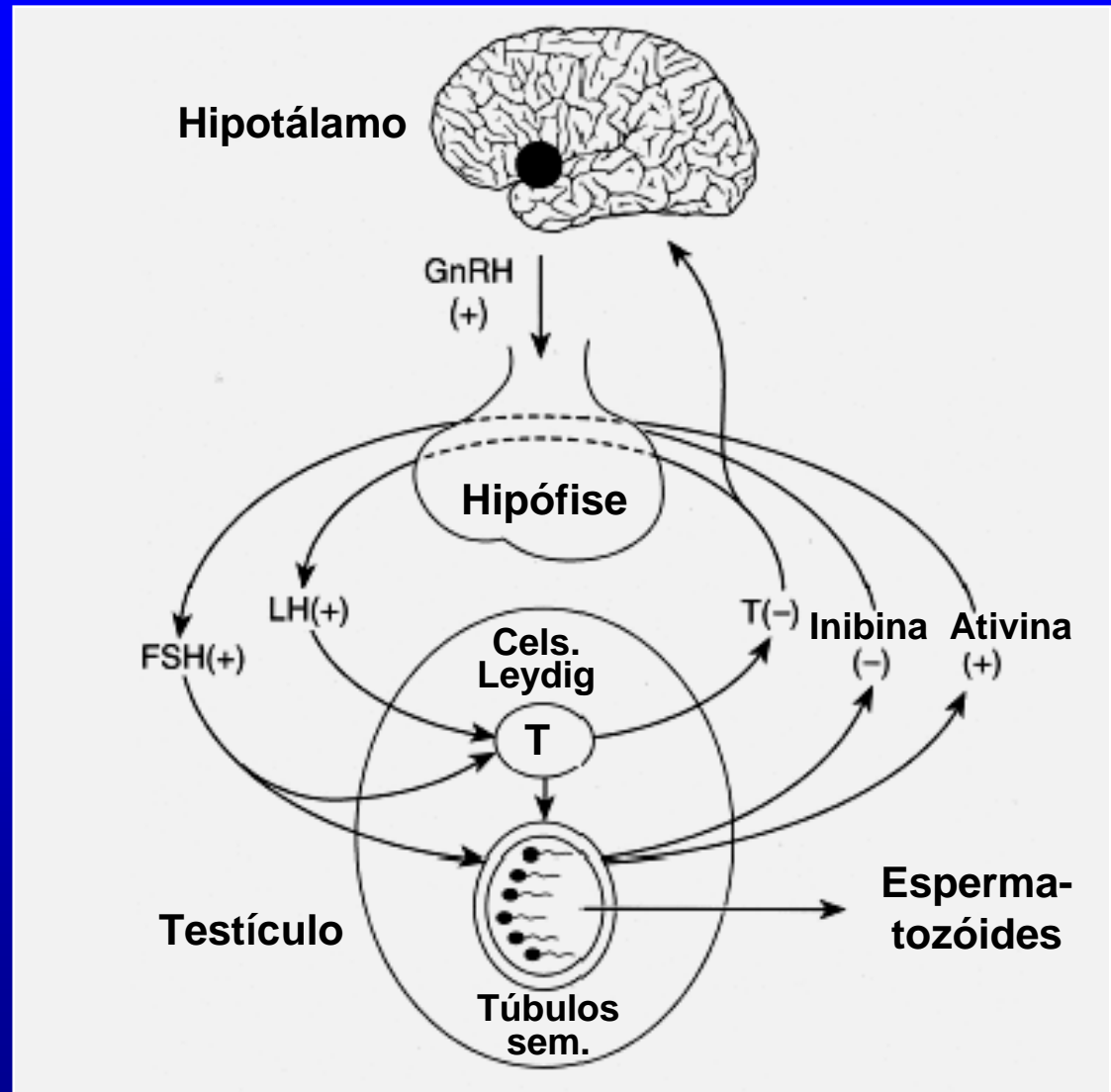
**Como é feito o controle da
secreção dos hormônios
sexuais?**

Controle da Secreção

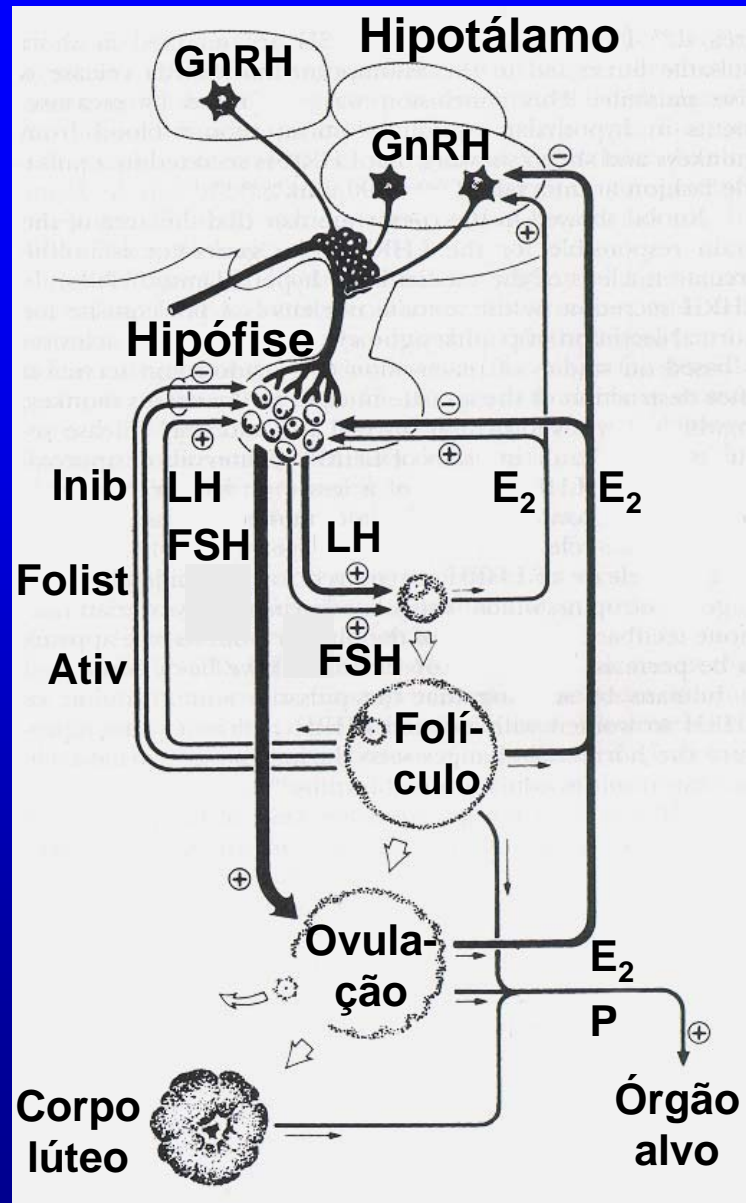
Hormônios envolvidos

- Hormônio luteinizante (LH)
- Hormônio folículo-estimulante (FSH)
- Prolactina
- Gonadotrofina coriônica humana (hCG)
- Inibina
- Ativina
- Folistatina ou foliculostatina

Secreção em Homens



Secreção em Mulheres



Que cuidados devem ser tomados na coleta dos hormônios sexuais?

Dados do Paciente

- Data da última menstruação
- Medicamentos em uso
 - ✓ Clomifene
 - ✓ Fenotiazínicos, sulpiride, haloperidol, tricíclicos, cimetidina, metil-dopa, metoclopramida
 - ✓ Estrógenos conjugados
 - ✓ Anabolizantes
 - ✓ Derivados da testosterona

Coleta

- **Período**

- Colher nos primeiros 7 dias do ciclo menstrual (fase folicular) ou no 21º dia (fase lútea)

- **Preparo**

- Jejum de 4 horas
- Repouso antes da coleta: recomendado em alguns casos de dosagem de prolactina

- **Material**

- Soro: 25 μ L para cada dosagem AutoDELFI

Quais são os métodos utilizados para dosagem dos hormônios sexuais?

Dosagem

- Métodos manuais
 - ✓ Radioimunoensaio
 - ✓ Enzaimunoensaio
- Métodos automatizados
 - ✓ Fluorimetria por tempo resolvido (AutoDELFIA)
 - ✓ Quimioluminescência
 - ✓ Enzaimunoensaio

AutoDELFIA hLH Spec

- Método

- Ensaio imunofluorométrico não competitivo com dois anticorpos monoclonais anti- β LH

- Características

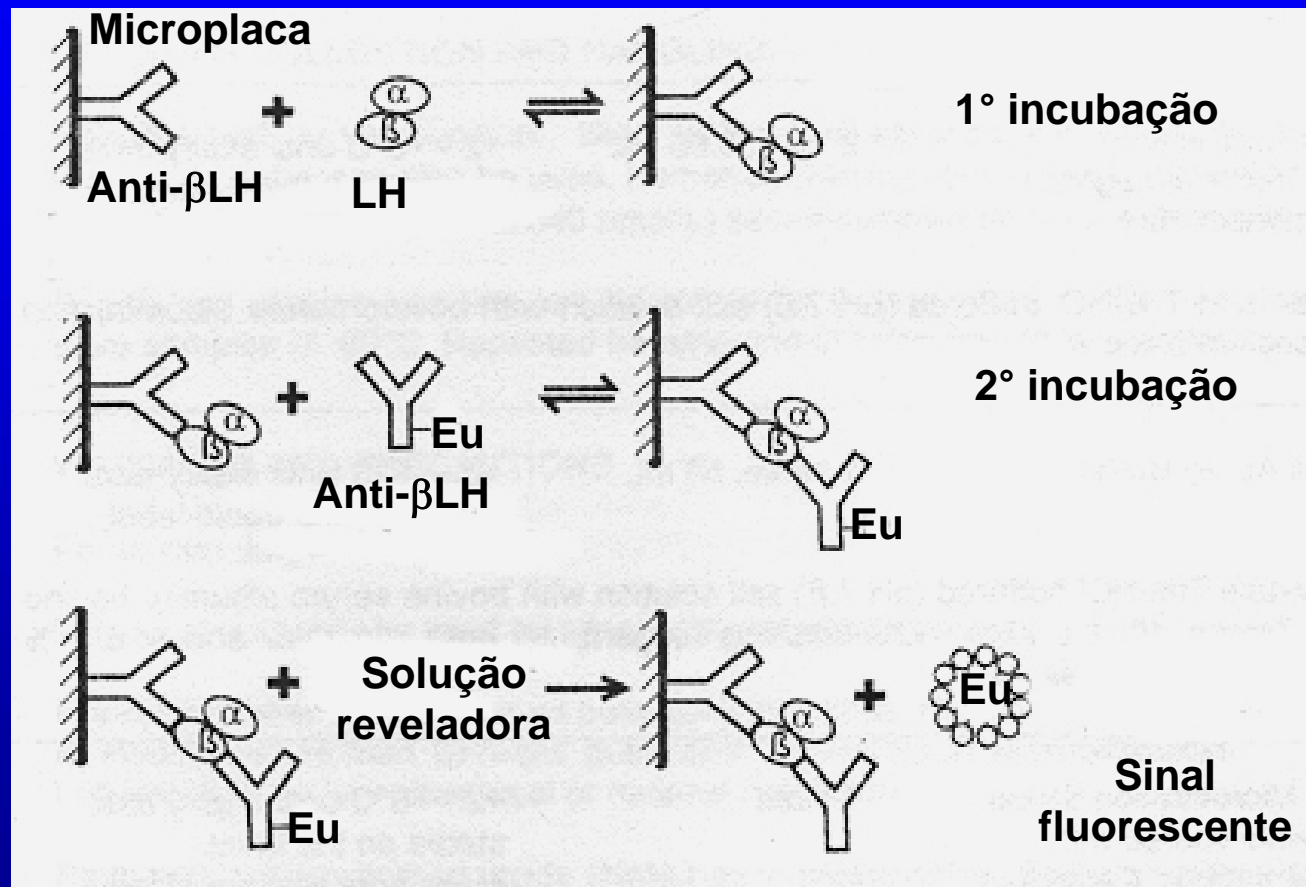
- ✓ Sensibilidade: 0,6 U/L

- ✓ Variação intra-ensaio: $\leq 3,5\%$

- ✓ Variação inter-ensaio: $\leq 3,8\%$

- ✓ Reação cruzada com hCG em níveis elevados (gravidez)

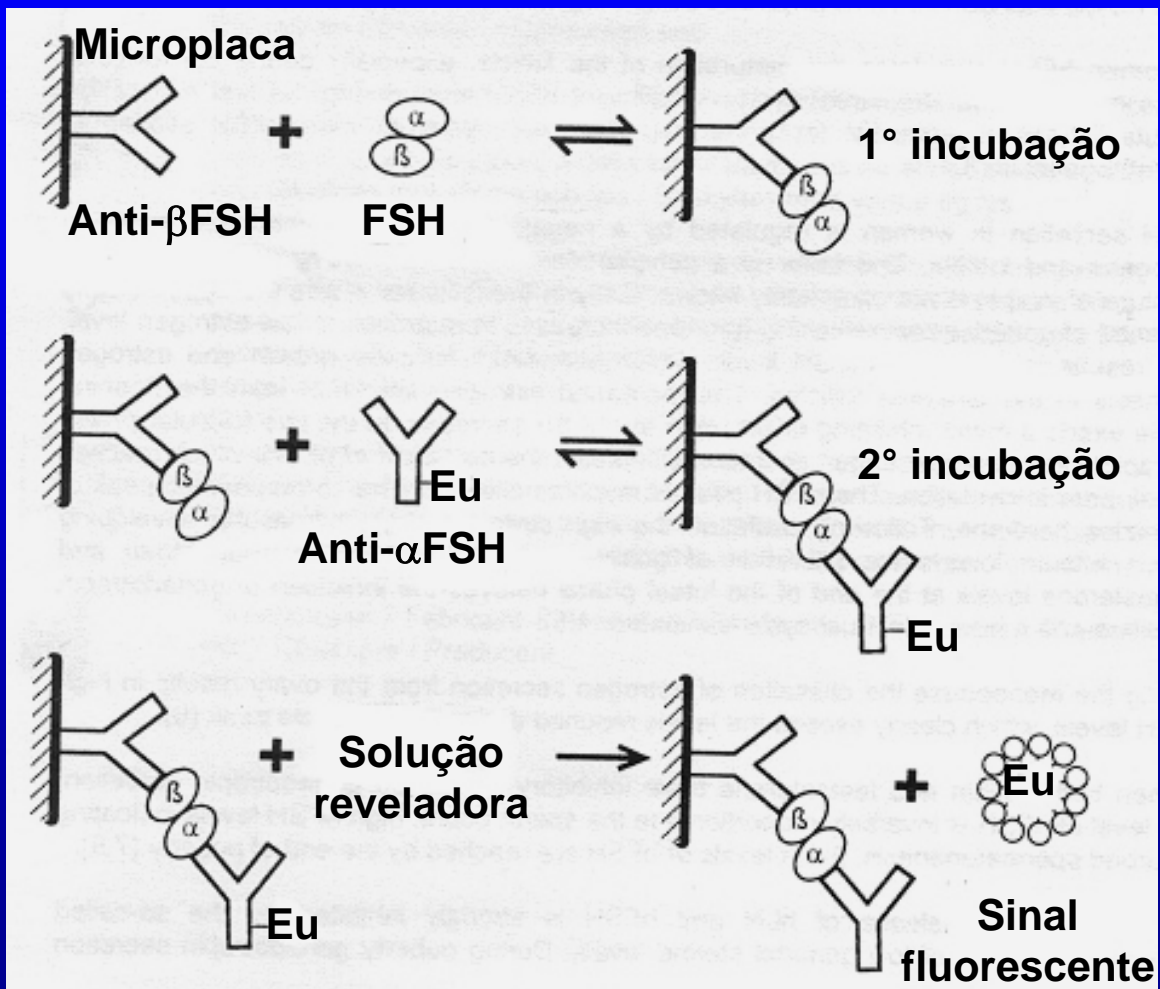
AutoDELFIA hLH Spec



AutoDELFIA hFSH

- **Método**
 - Ensaio imunofluorométrico não competitivo com anticorpos monoclonais anti- α FSH e anti- β FSH
- **Características**
 - ✓ Sensibilidade: 1,0 U/L
 - ✓ Variação intra-ensaio: $\leq 1,9\%$
 - ✓ Variação inter-ensaio: $\leq 4,2\%$
 - ✓ Reação cruzada com hCG em níveis elevados (gravidez)

AutoDELFIA hFSH



Teste de Estímulo com GnRH

- **Objetivo**

- ✓ Avaliar reserva hipofisária de gonadotrofinas
- ✓ Investigar padrão de secreção de gonadotrofinas (pré-puberal ou puberal)

- **Procedimento**

- ✓ GnRH (LHRH) 100 μ g EV no tempo 0
- ✓ dosagens de LH e FSH nos tempos 0, 15, 30, 45 e 60 min após GnRH

Teste de Estímulo com GnRH

- Interpretação

- ✓ incremento de LH e FSH após GnRH:
 - sugere reserva hipofisária de gonadotrofinas
- ✓ pico de LH $> 9,6$ U/L (meninos) ou $> 6,9$ U/L (meninas), principalmente se associada a uma resposta do LH $>$ FSH após GnRH:
 - sugere padrão puberal de secreção de gonadotrofinas

AutoDELFIA Prolactin

- Método

- Ensaio imunofluorométrico não competitivo com dois anticorpos monoclonais anti-prolactina

- Características

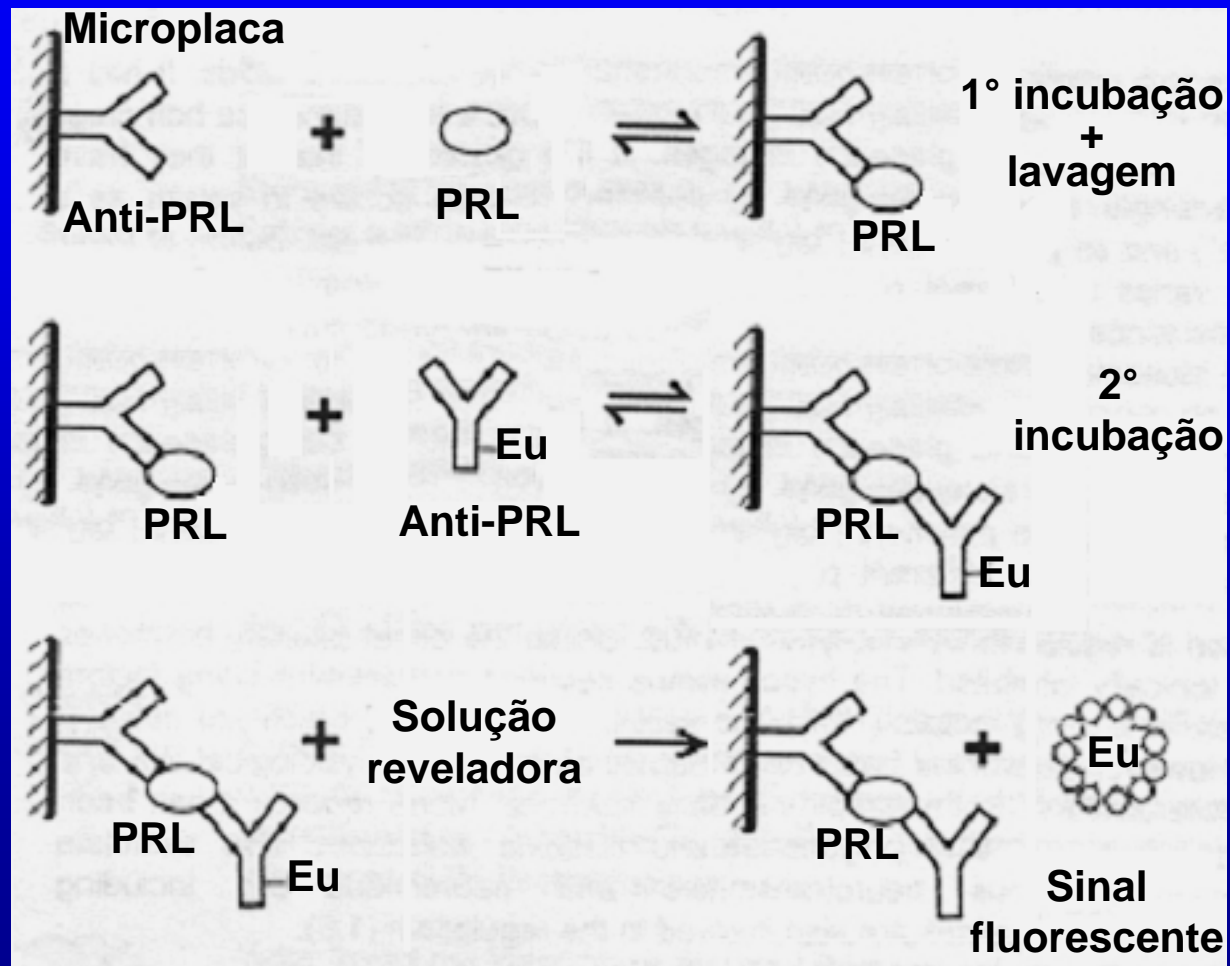
- ✓ Sensibilidade: 0,2 ng/mL

- ✓ Variação intra-ensaio: $\leq 1,0\%$

- ✓ Variação inter-ensaio: $\leq 6,4\%$

- ✓ Possível efeito gancho em amostras com prolactina > 2500 ng/mL

AutoDELFI A Prolactin



AutoDELFIA Prolactin

Efeito Gancho

- Pode ocorrer em amostras com prolactina > 2500 ng/mL em ensaios AutoDELFIA.
- Resulta em valores falsamente baixos de prolactina em ensaios com apenas uma incubação.
- Pode ser evitado incluindo-se uma incubação e lavagem adicional antes de se acrescentar o anticorpo marcado com Eu.

AutoDELFIA Prolactin

Efeito Gancho

Dosagens de prolactina realizadas em ensaios AutoDELFIA em um paciente com grande tumor hipofisário produtor de prolactina

Ensaio	Amostra não diluída	Amostra dil. 1:100	Amostra dil. 1:200
1 incubação e lavagem	126 ng/mL	15.600 ng/mL	16.600 ng/mL
2 incubações e lavagem	> 250 ng/mL	16.000 ng/mL	16.700 ng/mL

Macroprolactina

- Formas circulantes de prolactina
 - forma predominante e biologicamente ativa: monômero 23-kDa
 - outras formas circulantes mas sem atividade biológica:
 - ✓ dímero 50-kDa (big prolactin)
 - ✓ macroprolactina 150-170 k-Da (big-big prolactin)
- Hiperprolactinemia assintomática pode ser devido à presença de macroprolactina

Macroprolactina

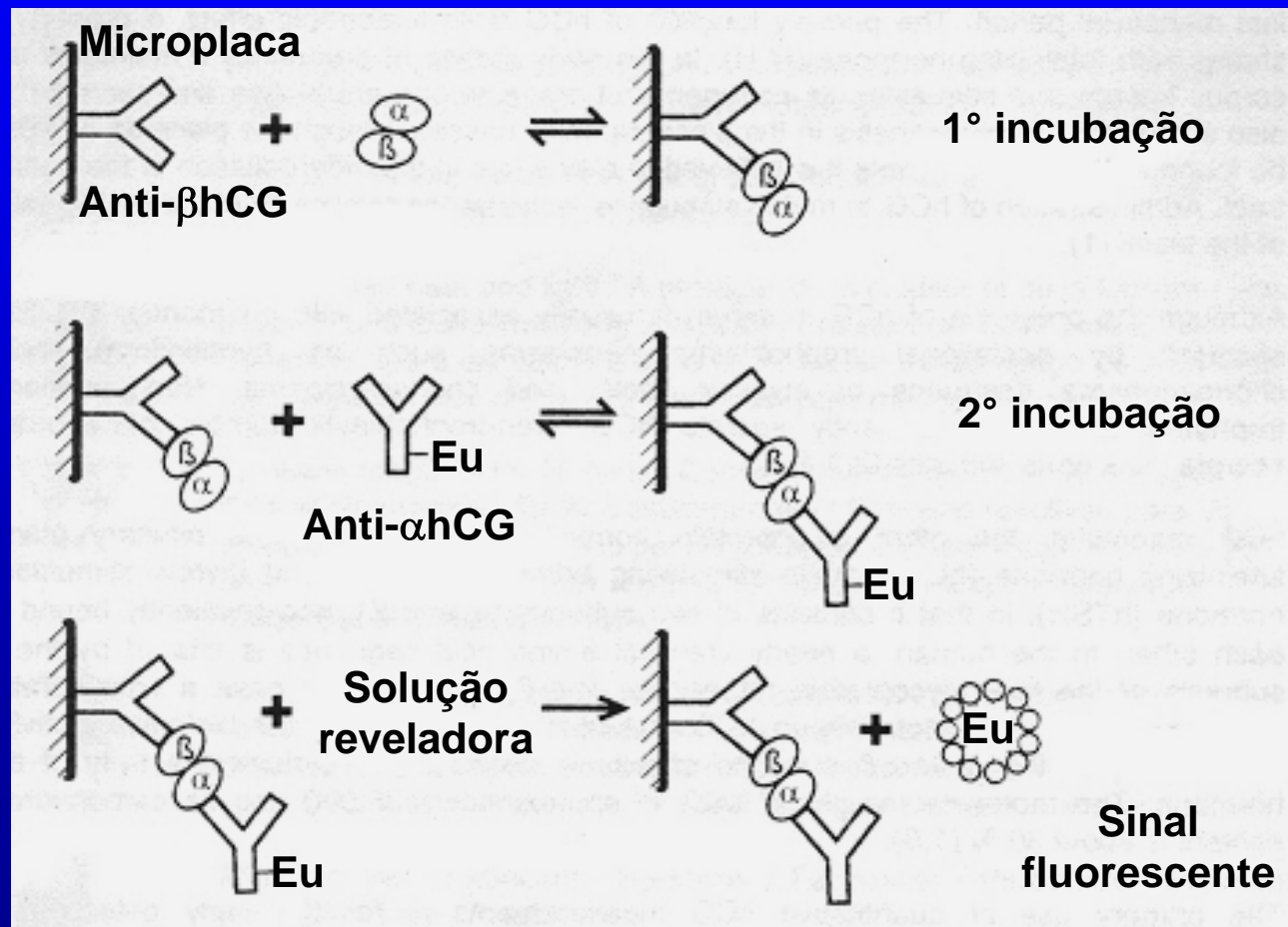
Pesquisa

- Método de triagem
 - Precipitação com polietilenoglicol 6000
 - Dosagem de prolactina antes e após precipitação (sobrenadante)
 - Razão (%) entre os 2 valores de prolactina:
 - < 30%: presença de macroprolactina
 - 30-65%: inconclusivo
 - > 65%: ausência de macroprolactina
- Método definitivo
 - Filtração em gel de Sephacryl

AutoDELFIA hCG

- Método
 - Ensaio imunofluorométrico não competitivo com anticorpos monoclonais anti- α hCG e anti- β hCG
- Características
 - ✓ Sensibilidade: 3,0 U/L
 - ✓ Variação intra-ensaio: $\leq 2,0\%$
 - ✓ Variação inter-ensaio: $\leq 4,4\%$
 - ✓ Possível efeito gancho em amostras com hCG $> 1.000.000$ U/L

AutoDELFLIA hCG

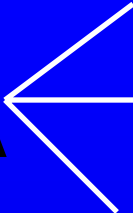


AutoDELFIA hCG

Particularidades

- Ensaio realizado todo em duplicata devido à possibilidade de “carry-over”
- Todo paciente com hCG entre 3 e 20 U/L deve repetir o teste em 2 dias para demonstrar a elevação do hormônio e confirmar o diagnóstico de gravidez

AutoDELFI



- Testosterona
- Estradiol
- Progesterona

- Método

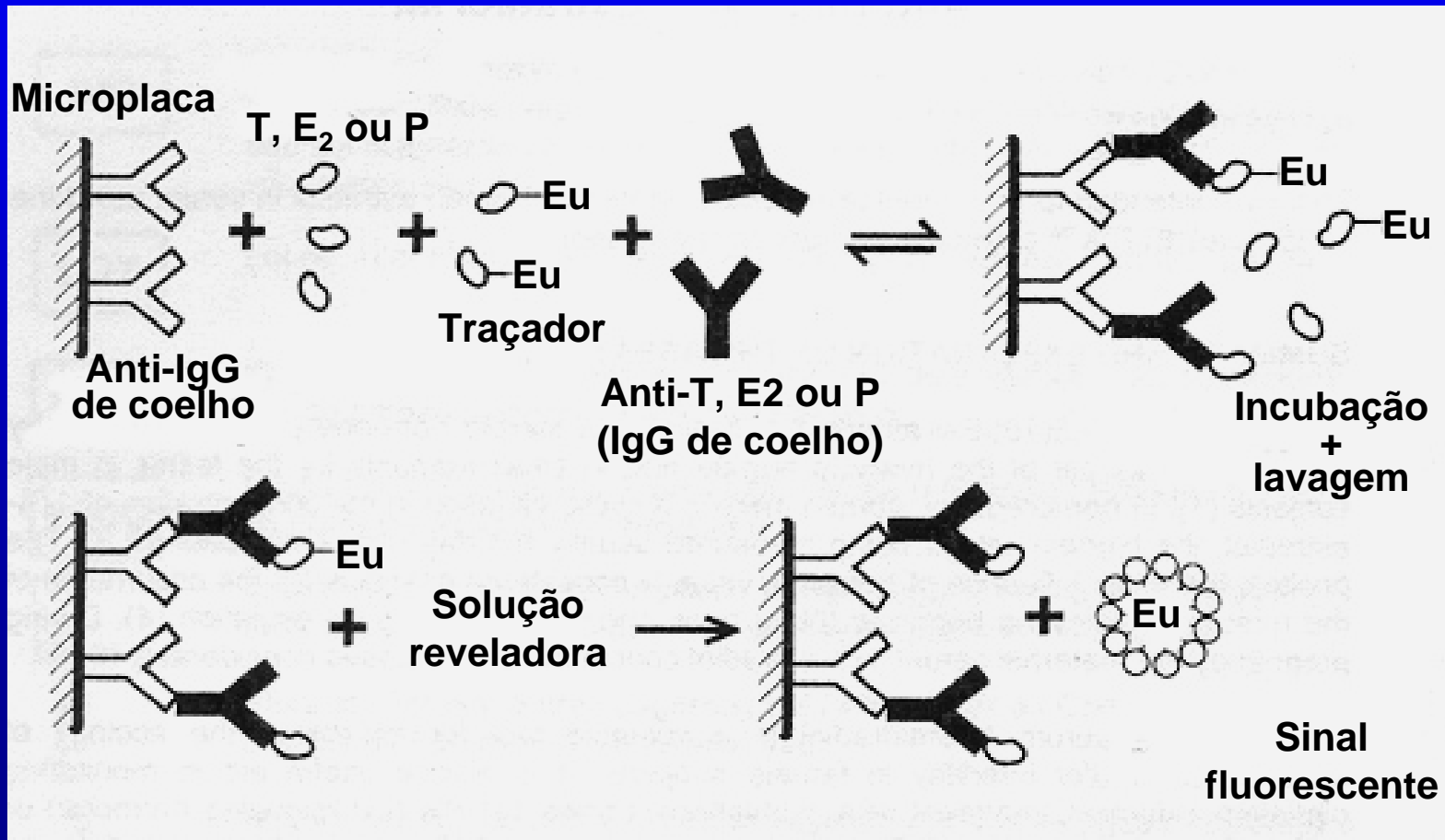
- Fluoroimunoensaio competitivo com anticorpos policlonais anti-testosterona, anti-estradiol ou anti-progesterona

- Características

Hormônio	Sensibilidade	V. intra-ensaio	V. inter-ensaio
Testosterona	14 ng/dL	≤ 3,5%	≤ 9,3%
Estradiol	14 pg/mL	≤ 4,9%	≤ 7,0%
Progesterona	0,3 ng/mL	≤ 6,0%	< 7,0%

AutoDELFI

- Testosterona
- Estradiol
- Progesterona



AutoDELFIA ← **Testosterona**
Estradiol
Progesterona

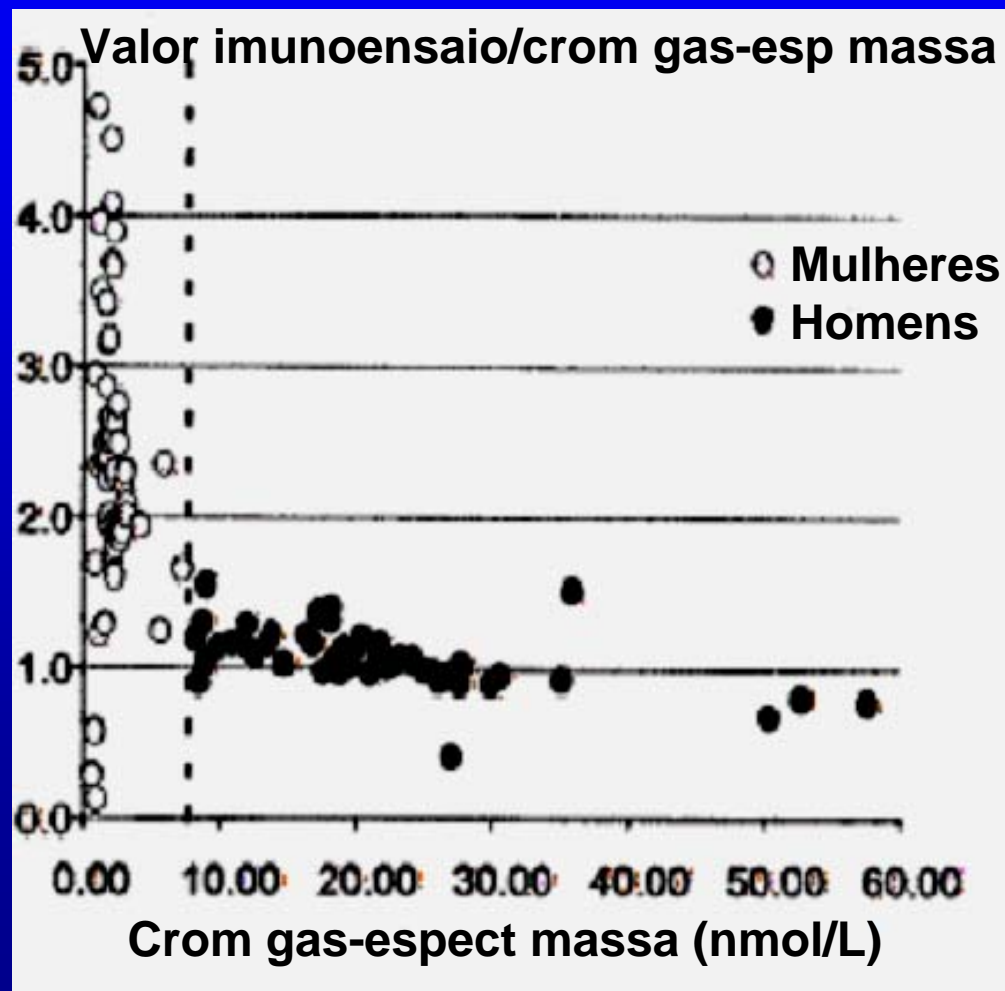
Interferentes

- Ocorrem principalmente em ensaios de testosterona.
- Podem resultar em valores falsamente elevados de testosterona em mulheres e crianças.
- Podem ser proteínas ligantes de hormônios sexuais, outros esteróides relacionados à testosterona presentes na amostra ou fatores não esclarecidos.

Testosterona Dosada em 10 Imunoensaios e por Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massa

(Taieb J et al, Clinical Chemistry 2003;49:1381-95)

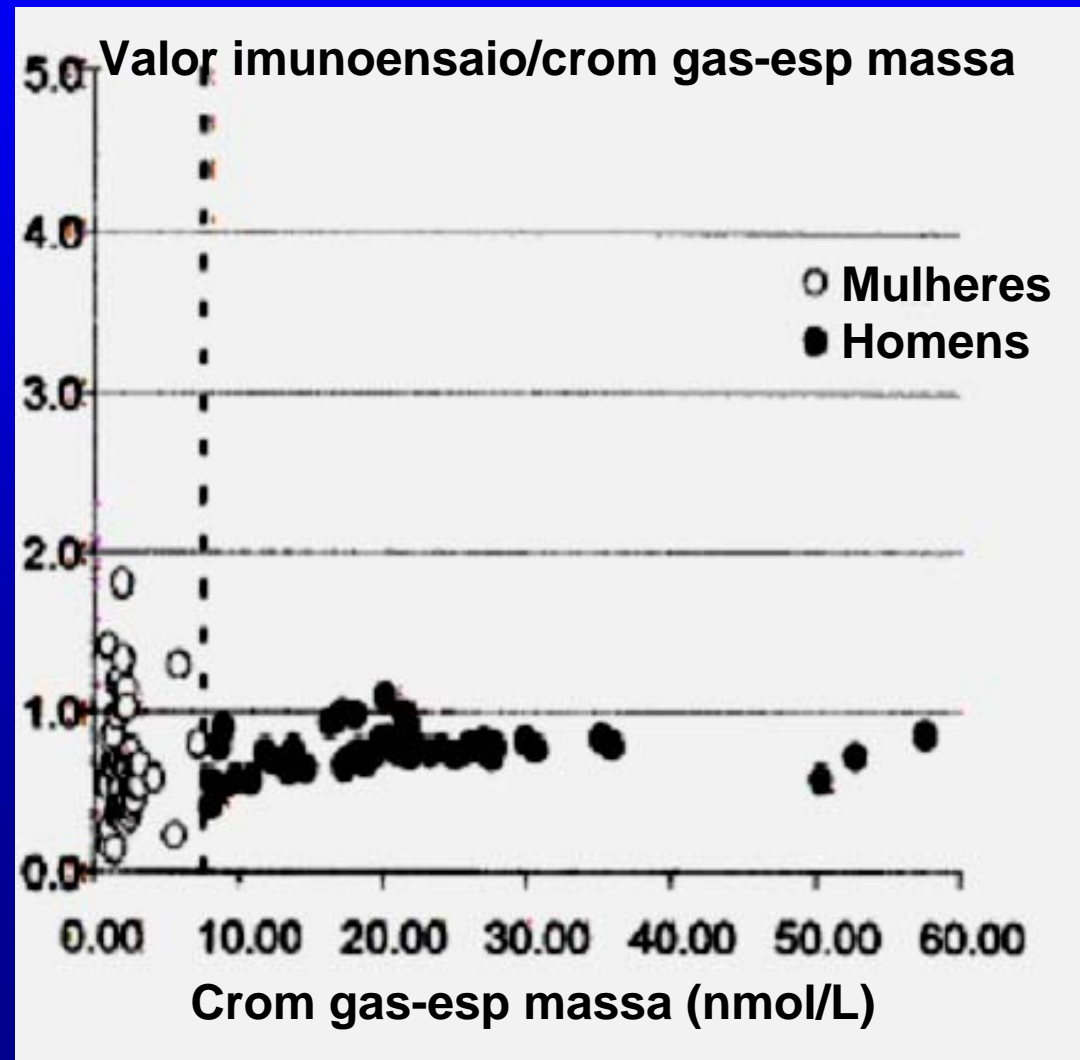
AutoDELFIA
Immulite 2000
Architect i2000
ACS 180



Testosterona Dosada em 10 Imunoensaios e por Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massa

(Taieb J et al, Clinical Chemistry 2003;49:1381-95)

Elecsys 2010
Vitros Eci
Vidas
RIA Immunotech
RIA DPC



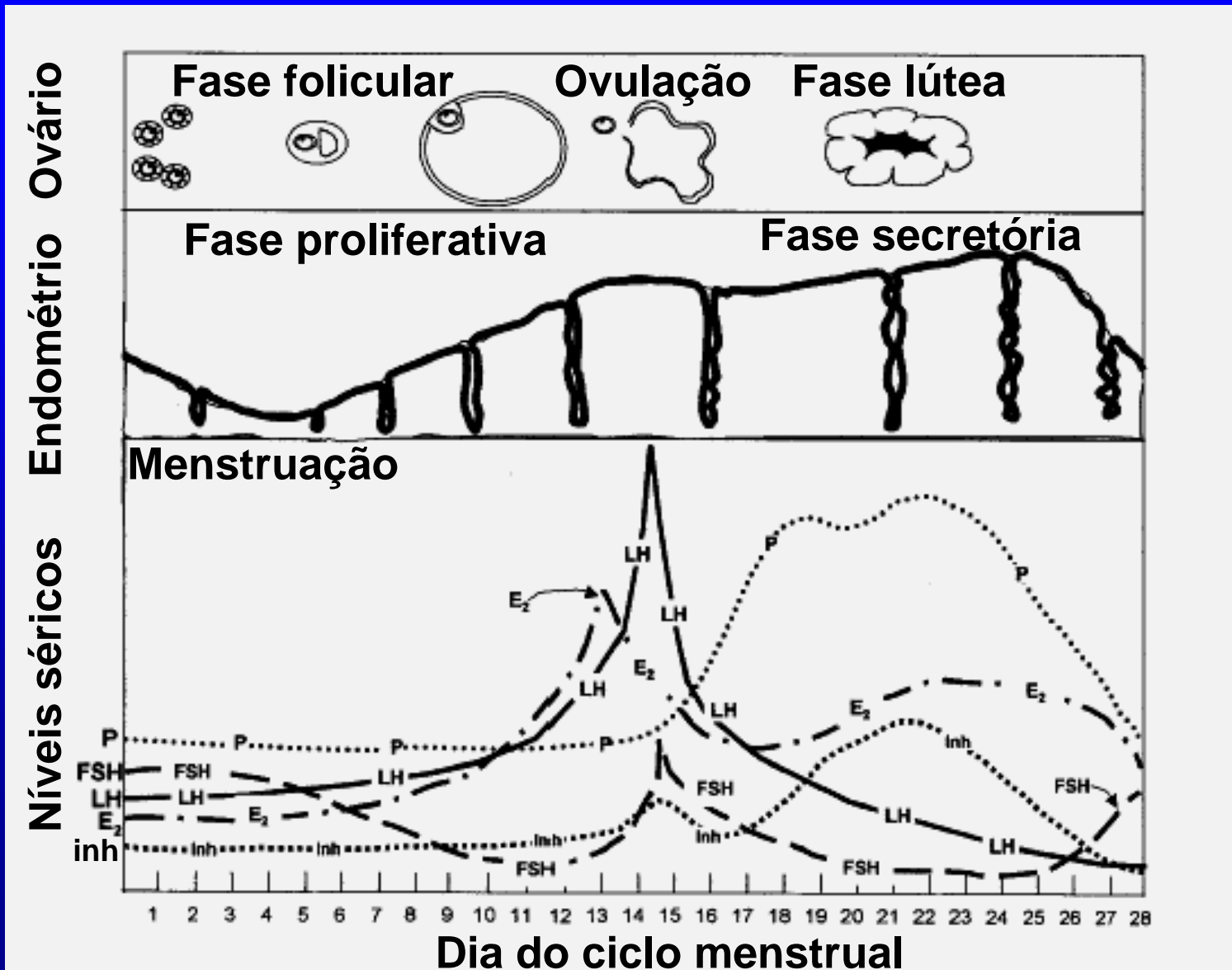
**Como se comportam os
hormônios sexuais em
indivíduos normais?**

Secreção em Crianças

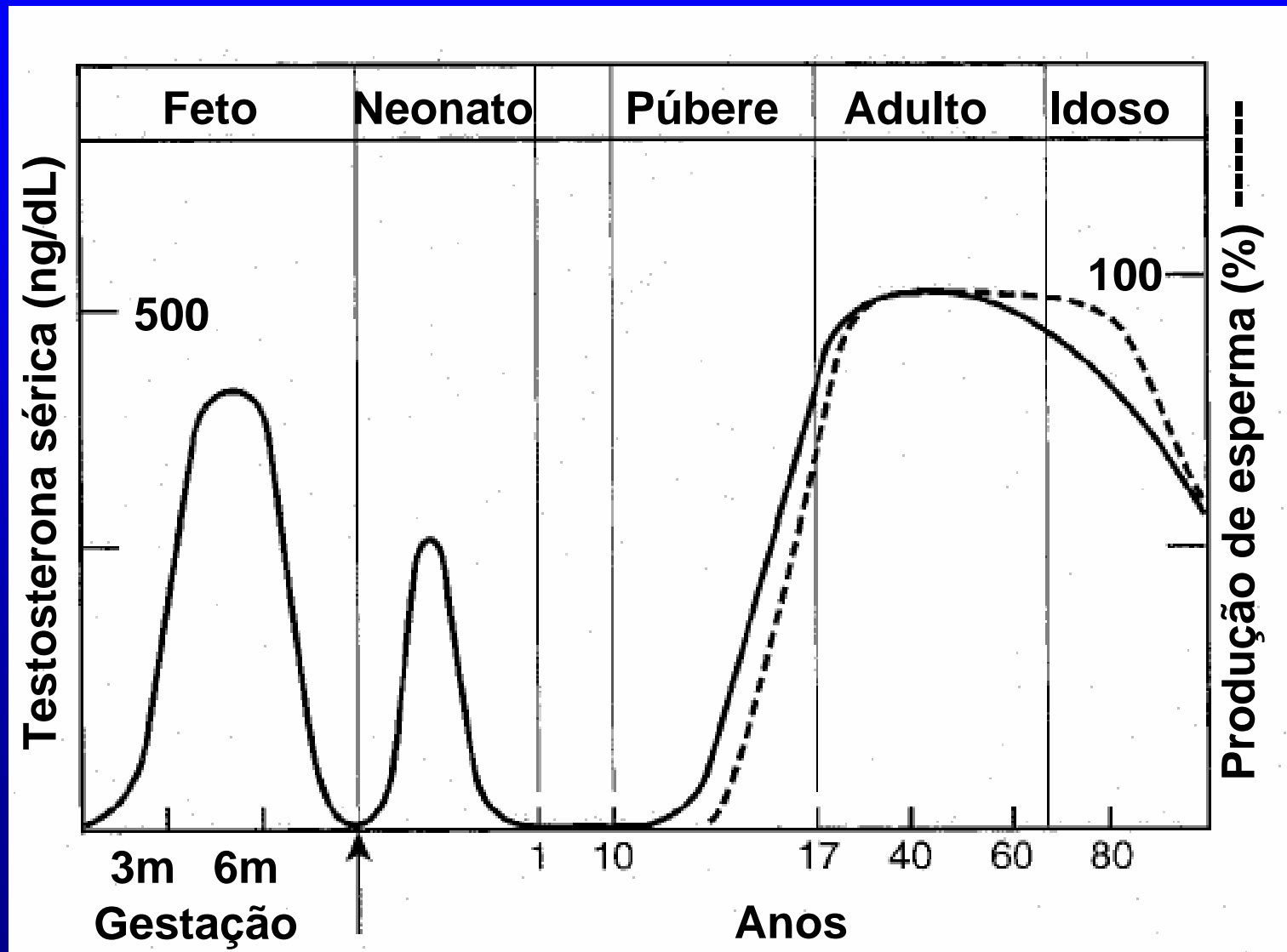
- Secreção de hormônios sexuais suprimida até o início da puberdade
 - ✓ LH \leq 0,7 U/L (ambos sexos)
 - ✓ FSH \leq 3,0 U/L (ambos sexos)
 - ✓ testosterona \leq 19 ng/dL (meninos)
 - ✓ estradiol \leq 21 pg/mL (meninas)
 - ✓ progesterona $<$ 0,3 ng/mL (meninas)

(valores AutoDELFIA)

Sexo Feminino



Sexo Masculino



Em que pacientes estão indicadas as dosagens de hormônios sexuais?

Distúrbios da Função Gonadal

- Hiperfunção
 - ✓ Puberdade precoce (crianças)
 - ✓ Hiperandrogenismo (adultos)
- Hipofunção
 - ✓ Puberdade retardada (adolescentes)
 - ✓ Hipogonadismo (adultos)

Puberdade Precoce

- Níveis puberais de testosterona ou estradiol:
 - testosterona >19 ng/dL em meninos < 9 anos
 - estradiol > 21 pg/mL em meninas < 8 anos
- LH basal $> 0,7$ U/L e pico pós-GnRH $> 9,6$ U/L (meninos) ou $6,9$ U/L (meninas):
 - sugerem distúrbio hipotalâmico ou hipofisário levando a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal
- LH basal ou pós-GnRH $< 0,6$ U/L:
 - sugerem distúrbio adrenal ou gonadal levando a produção excessiva de hormônios sexuais

Hiperandrogenismo

- Testosterona ↑ em mulheres (total > 84 ng/dL e livre > 47 pmol/L)
- Testosterona pouco ↑ (total: 85-150 ng/dL), razão LH/FSH > 3 e androstenediona pouco ↑ (3-5 ng/mL):
 - sugerem síndrome dos ovários policísticos
- Testosterona muito ↑ (total > 200 ng/dL) e LH/FSH ↓ (< 0,6 U/L e < 1,0 U/L):
 - sugerem síndrome virilizante:
 - ✓ tumor adrenal (dehidroep-sulf > 10.000 ng/mL)
 - ✓ tumor ovariano

Puberdade Retardada

- Níveis suprimidos de testosterona ou estradiol:
 - testosterona < 14 ng/dL em meninos >14 anos
 - estradiol < 14 pg/mL em meninas > 13 anos
- LH basal $\leq 0,7$ U/L e pico pós-GnRH < 9,6 U/L (meninos) ou < 6,9 U/L (meninas) sugerem:
 - retardo constitucional de crescimento e puberdade
 - hipogonadismo de origem hipotalâmica-hipofisária (se não houver incremento de LH/FSH após GnRH)
- LH e FSH basais \uparrow (> 10 U/L):
 - sugerem hipogonadismo primário (distúrbio testicular ou ovariano)

Hipogonadismo

- Níveis diminuídos de hormônios sexuais:
 - testosterona ↓ (< 250 ng/dL em homens)
 - estradiol ↓ (< 14 pg/mL em mulheres)
- LH e FSH ↓ (< 0,6 U/L e < 1,0 U/L):
 - sugerem hipogonadismo de origem hipotalâmica ou hipofisária
 - incremento do LH e FSH após estímulo com GnRH: sugere distúrbio hipotalâmico
 - prolactina ↑: sugere microprolactinoma (50-200 ng/mL) ou macroprolactinoma (> 200 ng/mL)
- LH e FSH ↑ (> 10 U/L):
 - sugerem hipogonadismo primário (falência testicular ou ovariana, menopausa)