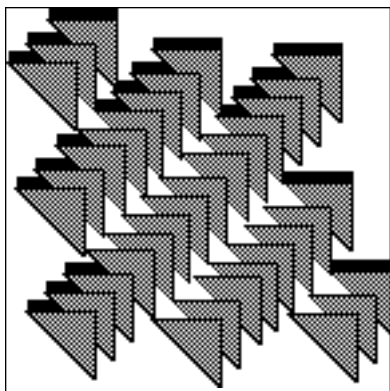


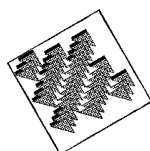
ISSN 0394 3291

Caleidoscopio

Italiano



Carlo Bulletti
Marco Filicori
Valerio Maria Jasonni
Gianfranco Bolelli
Carlo Flamigni



L'amenorrea



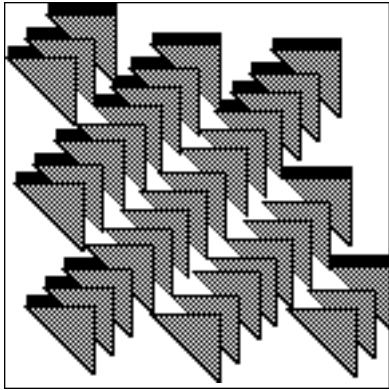
Direttore Responsabile
Sergio Rassu



Via Rio Torbido, 40 - Genova (Italy) Tel. 010 83.401
Stampato a Genova 1987

Caleidoscopio

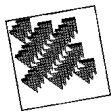
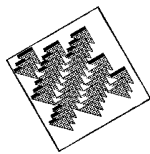
Italiano



Carlo Bulletti
Marco Filicori
Valerio Maria Jasonni
Gianfranco Bolelli
Carlo Flamigni

Fisiopatologia della Riproduzione Ospedale
Policlinico S. Orsola Cattedra di Endocrinologia
Università di Bologna

L'amenorrea



Direttore Responsabile
Sergio Rassu



27

Via Rio Torbido, 40 - Genova (Italy) Tel. 010 83.401
Stampato a Genova 1987

ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

INFORMAZIONI GENERALI. *Caleidoscopio* pubblica lavori di carattere monografico a scopo didattico su temi di Medicina. La rivista segue i requisiti consigliati dall' *International Committee of Medical Journal Editors*. Gli Autori vengono invitati dal Direttore Responsabile. La rivista pubblica anche monografie libere, proposte direttamente dagli Autori, redatte secondo le regole della Collana.

TESTO. La monografia deve essere articolata in paragrafi snelli, di rapida consultazione, completi e chiari. I contenuti riportati devono essere stati sufficientemente confermati. E' opportuno evitare di riportare proprie opinioni dando un quadro limitato delle problematiche. La lunghezza del testo può variare dalle 60 alle 70 cartelle dattiloscritte. Si prega di dattilografare su una sola facciata del foglio formato A4 con margini di almeno 25 mm. Usare dovunque doppi spazi e numerare consecutivamente. Ogni sezione dovrebbe iniziare con una nuova pagina.

FRONTESPIZIO. Deve riportare il nome e cognome dell'Autore(i) -non più di cinque- il titolo del volume, conciso ma informativo, la Clinica o Istituto cui dovrebbe essere attribuito il lavoro, l'indirizzo, il nome e l'indirizzo dell'Autore (compreso telefono, fax ed indirizzo di E-mail) responsabile della corrispondenza.

BIBLIOGRAFIA. Deve essere scritta su fogli a parte secondo ordine alfabetico seguendo le abbreviazioni per le Riviste dell'Index Medicus e lo stile illustrato negli esempi:

1) Björklund B., Björklund V.: Proliferation marker concept with TPS as a model. A preliminary report. *J. Nucl. Med. Allied. Sci* 1990 Oct-Dec, VOL: 34 (4 Suppl), P: 203.

2 Jeffcoate S.L. e Hutchinson J.S.M. (Eds): *The Endocrine Hypothalamus*. London. Academic Press, 1978.

Le citazioni bibliografiche vanno individuate nel testo, nelle tabelle e nelle legende con numeri arabi tra parentesi. La Redazione è collegata on-line con le più importanti Banche Dati (Medline, Cancerlit, AIDS etc) e fornisce ogni eventuale assistenza agli Autori.

TABELLE E FIGURE. Si consiglia una ricca documentazione iconografica (in bianco e nero eccetto casi particolare da concordare). Figure e tabelle devono essere numerate consecutivamente (secondo l'ordine di citazione nel testo) e separatamente; sul retro delle figure deve essere indicato l'orientamento, il nome dell'Autore ed il numero. Le figure realizzate professionalmente; è inaccettabile la riproduzione di caratteri scritti a mano libera. Lettere, numeri e simboli dovrebbero essere chiari ovunque e di dimensioni tali che, se ridotti, risultino ancora leggibili. Le fotografie devono essere stampe lucide, di buona qualità. Gli Autori sono responsabili di quanto riportato nel lavoro e dell'autorizzazione alla pubblicazione di figure o altro. Titoli e spiegazioni dettagliate appartengono alle legende, non alle figure stesse.

Su fogli a parte devono essere riportate le legende per le figure e le tabelle.

UNITÀ DI MISURA. Per le unità di misura utilizzare il sistema metrico decimale o loro multipli e nei termini dell'International system of units (SI).

ABBREVIAZIONI. Utilizzare solo abbreviazioni standard. Il termine completo dovrebbe precedere nel testo la sua abbreviazione, a meno che non sia un'unità di misura standard.

PRESENTAZIONE DELLA MONOGRAFIA. Riporre le fotografie in busta separata, una copia del testo e dei grafici archiviati su un dischetto da 3.5 pollici preferibilmente Macintosh.

Il dattiloscritto originale, le figure, le tabelle, il dischetto, posti in busta di carta pesante, devono essere spediti al Direttore Responsabile con lettera di accompagnamento. L'autore dovrebbe conservare una copia a proprio uso. Dopo la valutazione espressa dal Direttore Responsabile, la decisione sulla eventuale accettazione del lavoro sarà tempestivamente comunicata all'Autore. Il Direttore responsabile deciderà sul tempo della pubblicazione e conserverà il diritto usuale di modificare lo stile del contributo; più importanti modifiche verranno eventualmente fatte in accordo con l'Autore. I manoscritti e le fotografie se non pubblicati non si restituiscono.

L'Autore riceverà le bozze di stampa per la correzione e sarà Sua cura restituirle al Direttore Responsabile entro cinque giorni, dopo averne fatto fotocopia. Le spese di stampa, ristampa e distribuzione sono a totale carico della Medical Systems che provvederà a spedire all'Autore cinquanta copie della monografia. Inoltre l'Autore avrà l'opportunità di presentare la monografia nella propria città o in altra sede nel corso di una serata speciale.

L'Autore della monografia cede tutti i pieni ed esclusivi diritti sulla Sua opera, così come previsti dagli artt. 12 e segg. capo III sez. I L. 22/4/1941 N. 633, alla Rivista *Caleidoscopio* rinunciando agli stessi diritti d'autore (ed acconsentendone il trasferimento ex art. 132 L. 633/41). Tutta la corrispondenza deve essere indirizzata al Direttore Responsabile al seguente indirizzo:

**Dott. Sergio Rassu
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari**

Caleidoscopio

Italiano

Editoriale

L'amenorrea, titolo di questo volume, non corrisponde al/a diagnosi di una malattia, ma solo al sintomo di una malattia che ne è la causa.

Come ogni altro sintomo è fondamentale fare una diagnosi prima di instaurare un trattamento.

Questo volume ci guida, con estrema chiarezza ed in modo completo, attraverso le complesse problematiche legate all'amenorrea rendendo la metodologia di studio elementare.

Dopo una prima analisi globale, con inquadramento della amenorrea da cause anatomiche, ovariche ed ipotalamo-ipofisarie, vengono analizzate, da un punto di vista fisiopatologico, le metodologie di studio endocrino della paziente amenorrea sino ad arrivare alla parte dedicata all'approccio clinico e finire con una bibliografia, ricchissima, di sicura utilità.

Il volume, per la Sua completezza e chiarezza potrà sicuramente rappresentare un punto di riferimento per coloro che vorranno inquadrare meglio questi temi.

Io, personalmente, mi auguro che possa servire ad assottigliare il numero, anche se non enorme, di coloro che instaurano, prima di stabilire la causa dell'amenorrea, un trattamento ormonale sostitutivo.

Gli autori del volume, il prof. Carlo Flamini, e i suoi collaboratori, hanno, 'altra parte, autorità e competenza specifica e il Centro di Fisiopatologia della Riproduzione dell'Università di Bologna, è ormai famoso in tutto il mondo come d'altra parte i suoi componenti: il Direttore Carlo Flamigni, il suo Aiuto prof. Valerio Maria Jasonni, i Ricercatori dottori Carlo Bulletti e Marco Filicori, l'Assistente tecnico Professionale dottor Gianfranco Bolelli.

Le collaborazioni e gli scambi internazionali sono quanto mai qualificati. Il Professor Flamini ed i suoi collaboratori hanno infatti frequentato e portato avanti ricerche prestigiose in numerose Università: quella di Lubiana, il Chelsea Hospital for Women di Londra, il King's College di Londra, l'Università di Gand in Belgio, il Weizmann Institute of Science di Rehovot in Israele, la Mount Sinai School of Medicine della City University of New York, l'Università del Tennessee a Memphis, l'Università di Harvard ed il Massachusetts General Hospital.

In Italia hanno sviluppato numerosi programmi di ricerca, nell'ambito

del CNR, in qualità di membri dell'Unione operativa "Fisiopatologia della Riproduzione" e "Controllo di qualità interlaboratori".

I risultati di tutte queste numerose attività si sono concretizzati in un numero impressionante di pubblicazioni, quasi tutte su Riviste in lingua inglese di prestigio internazionale, nell'organizzazione di numerosi Congressi Internazionali su temi di Endocrinologia Ginecologica, la partecipazione diretta come relatori a Congressi praticamente in tutto il mondo e nella presenza nel Comitato di Redazione di numerose Riviste Scientifiche.

Sergio Rassu

INTRODUZIONE

La complessità dei diversi meccanismi fisiopatologici che portano ad uno stato di amenorrea impone uno studio accurato della funzione endocrina della paziente amenorroica.

L'esame clinico di una donna affetta da disturbi di presumibile origine endocrina è anzitutto agevolato, entro limiti ben precisi, dal fatto che la paziente può essere considerata come un test biologico nei riguardi del proprio assetto ormonale.

Le manifestazioni cliniche delle alterate funzioni endocrine dipendono dall'età della donna al momento della comparsa di tali alterazioni: così, mentre negli adulti le disfunzioni ormonali sono prevalentemente caratterizzate da disturbi endocrino-metabolici nei bambini e negli adolescenti esse possono produrre deviazioni dalla normale evoluzione dell'accrescimento somatico e dello sviluppo sessuale.

In questo senso, l'aumento del GH, di ormoni tiroidei, di estrogeni e di androgeni possono accelerare i processi di accrescimento, mentre l'eccesso di glucocorticoidi e la carenza di GH e di ormoni tiroidei possono ritardarli.

Le alterazioni dello sviluppo sessuale possono essere di vario tipo. L'epoca di comparsa o lo sviluppo delle caratteristiche sessuali secondarie possono modificarsi in rapporto con una secrezione steroidea anormale o come effetto di resistenza agli effetti ormonali da parte degli organi bersaglio.

Inoltre, le ambiguità dell'apparato genitale possono essere determinate da stimoli ormonali atipici subiti dal feto durante la vita intrauterina. Dopo il completamento dell'accrescimento somatico e dello sviluppo sessuale, le alterazioni endocrine producono effetti del tutto diversi. Se si considera la paziente come un test biologico, è dunque logico valutare i vari sintomi e i differenti segni clinici tenendo conto dei mutamenti biologici puberali.

In termini generali, la pubertà si associa con:

- 1) Rapido accrescimento dello sviluppo scheletrico, della muscolatura scheletrica e dei visceri;
- 2) dismorfismo sessuale, con modificazioni specifiche dell'accrescimento (fianchi più larghi nella donna, spalle più larghe nell'uomo);
- 3) mutamenti della composizione del corpo (aumento della muscolatura e delle ossa, diminuzione del tessuto adiposo);
- 4) sviluppo del sistema riproduttivo e delle caratteristiche sessuali secondarie.

Secondo gli studi di Marshall e Tanner (1) la pubertà femminile può essere divisa in specifici stadi di sviluppo sulla base di disegni somatici, compresa la quantità e le caratteristiche del pelo pubico e lo sviluppo dei seni.

Altrettanto importante è il rapporto temporale tra l'età del menarca, quella in cui è stata raggiunta la massima velocità di accrescimento lineare e l'età ossea.

Nella valutazione delle caratteristiche della pubertà è essenziale stabilire

se lo sviluppo di una paziente è, o non è stato, nei limiti della normalità in rapporto all'età e se lo sviluppo del seno e quello del pelo pubico sono stati in normale rapporto con l'accrescimento corporeo e col menarca. Tenendo conto di questo primo elemento, la storia della paziente dovrebbe essere raccolta con lo scopo di valutare gli effetti biologici di ciascuno dei vari ormoni, ruotando intorno al punto focale rappresentato dal principale disturbo.

Le alterazioni dello sviluppo sessuale si possono presentare con precocità e ritardi puberali o con segni di eterosessualità. La precocità sessuale può essere determinata da numerose cause, ma le sue manifestazioni cliniche sono comunque sempre secondarie ad un aumento della secrezione di gonadotropine (ipofisarie o extra-ipofisarie) o a malattie primitive dell'ovaio o del surrene.

E' opportuno parlare di precocità sessuale solo se chiari mutamenti di tipo puberale si manifestano prima dei 9 anni. Nelle ragazze, un aumento della secrezione di estrogeni determina una precocità isosessuale, mentre, se sono gli androgeni ad aumentare, la precocità è di tipo eterosessuale.

Per quanto riguarda la precocità isosessuale, la vela pubertà precoce delle ragazze deve essere distinta dal telarca precoce (caratterizzato dal solo aumento del seno), probabilmente a causa di un transitorio aumento degli estrogeni ematici) e dall'adrenarca precoce (caratterizzato dallo sviluppo isolato dei peli sessuali per aumento della secrezione degli ormoni surrenalici); in entrambi questi casi la maturazione puberale si verifica con caratteristiche normali. Va però ricordato che la crescita prematura dei peli del pube può rappresentare un segno iniziale di precocità iso od eterosessuale, oltre che una indicazione isolata di adrenarca prematuro.

Sebbene la maggior parte delle precocità isosessuali delle fanciulle sia idiopatica, è in ogni caso necessario escludere l'esistenza di un tumore di S.N.C., dell'ovaio o del surrene ed di una produzione di gonadotropine corioniche. L'esistenza di precisi rapporti tra l'ipotiroidismo e la precocità sessuale impone inoltre un'accurata anamnesi ed un'attenta ricerca dei sintomi prodotti da una deficienza di ormoni tiroidei.

E ancora, è importante escludere che la paziente abbia assunto volontariamente dei farmaci ormonali (non sempre dichiarati apertamente, come nel caso di contraccettivi) o abbia utilizzato creme o vitamine contenenti estrogeni. Non si dimentichi inoltre che, nell'adolescente, la comparsa di modificazioni nel comportamento o di segni di epilessia psico-motoria possono essere considerate come prova di una aumentata produzione di androgeni biologicamente attivi in un soggetto geneticamente femminile o, più raramente, come segno di errore occorso durante la vita embrionale nello sviluppo delle gonadi o nella differenziazione gonado-duttale o genitale.

Debbono quindi essere ricercati, senza tener conto dell'età, i segni principali dell'iperandrogenismo, e cioè l'acne, l'irsutismo, la perdita di capelli nelle regioni temporali, le modificazioni della voce e quelle relative alla distribuzione dei grassi corporei ed allo sviluppo delle masse muscolari.

L'irsutismo isolato compare frequentemente durante gli anni della pubertà: in questi casi si tratta per lo più di una sindrome dell'ovaio policistico (PCOS) o di una forma cosiddetta "idiopatica". In ogni caso deve essere valutata la possibilità che l'irsutismo (o la virilizzazione) sia determinata da una sindrome di Cushing, da neoplasia ovariche o surrenaliche. Anche se l'irsutismo di origine surrenalica è raramente associato ad amenorrea (molto frequente invece nei casi di irsutismo ovarico), è sempre necessario giungere ad una diagnosi differenziale attraverso specifici test (vedi il paragrafo relativo).

In qualche caso l'iperplasia surrenalica congenita da blocco parziale della 11 o della 21 idrossilasi, non viene diagnosticata fino al momento in cui si rendono evidenti i sintomi della precocità eterosessuale. La comparsa di una virilizzazione al momento della pubertà può far sospettare un quadro di femminilizzazione testicolare incompleta o altre forme di pseudo-ermafroditismo maschile; in questi soggetti, è talora possibile scoprire un'ereditarietà familiare, denunciata come storia di immaturità e di infantilismo sessuale. È evidente la necessità di indagini cromosomiche in ogni caso di sospetto ermafroditismo.

La pubertà è in genere ritardata se a 13 anni non sono comparsi i caratteri sessuali secondari, se a 16 anni non c'è stato ancora menarca e se passano più di 5 anni tra l'inizio dello sviluppo del seno ed il menarca. Poiché in molti casi gli errori nell'assegnazione del sesso non possono essere riconosciuti fino all'epoca presumibile della pubertà, è evidente l'importanza ai fini diagnostici di un'analisi cromosomica.

Nel raccogliere l'anamnesi, le domande debbono avere anzitutto lo scopo di chiarire se e quando si siano presentati i segni degli effetti biologici esercitati dagli ormoni steroidei. Ad esempio, la storia di una brusca interruzione dell'ordinata e progressiva comparsa delle modificazioni puberali fa sospettare l'esistenza di una neoplasia della regione ipofisaria o di un panipopituitarismo idiopatico; questo stesso quadro viene anche osservato con frequenza nei soggetti sottoposti a chemioterapia. La progressione asincrona dei fenomeni puberali, con sviluppo del seno ma in assenza di peli sessuali, è caratteristica della femminilizzazione testicolare e suggerisce comunque la necessità di eseguire esami cromosomici. Se invece l'epoca di comparsa ed il ritmo di progressione dei fenomeni puberali sono normali, ma non iniziano le mestruazioni, si deve sospettare un'aplasia o un difetto di sviluppo dei dotti di Müller. Nelle S. di Turner classiche possono essere documentate alterazioni oardiache o renali; l'anamnesi rivela talora l'esistenza di edema delle estremità inferiori nel periodo neonatale. Nelle pazienti con S. di Kallmann si rilevano invece con frequenza l'iposmia, il daltonismo e la palatoschisi; non è raro osservare tali patologie anche nei membri della famiglia.

Il ritardo puberale costituzionale, infine, sebbene relativamente frequente e spesso familiare, deve essere diagnosticato per esclusione. Talvolta i di-

sturbi del ciclo mestruale inducono la paziente a consulti medici al fine di ottenere assicurazioni circa la propria capacità riproduttiva. Talora invece la donna è così preoccupata per la sintomatologia mestruale da non notare altri e più importanti sintomi di disendocrinia. E anzitutto evidente la necessità di escludere, nelle donne amenorroiche, l'esistenza di una gravidanza o di una malattia trofoblastica legata ad una gravidanza. Di qui, l'importanza di valutare, nell'anamnesi, l'attività sessuale, l'uso di anticoncezionali e la passata storia riproduttiva. Da quest'ultima poi, possono essere tratte indicazioni relative ad una Sindrome di Sheehan, qualora le mestruazioni non si siano ripresentate dopo un parto complicato da una emorragia di rilievo. In questi casi è ovviamente necessario ricercare i segni di una insufficienza surrenalica e tiroidea. Nei casi di amenorrea secondaria, debbono essere ricercate con particolare attenzione le eventuali correlazioni con altri eventi. La perdita di peso ad esempio precede o accompagna frequentemente l'amenorrea, talora come segno di un problema psico affettivo. Nello stesso senso può essere interpretata la associazione tra amenorrea e rapido aumento ponderale.

Le cause psico-affettive dell'amenorrea sono numerose e difficili da inquadrare, anche se la maggior parte delle amenorree psicogene si presenta in soggetti particolarmente sensibili, impegnati in lavori intellettuali e stressanti. L'occasione per la comparsa della condizione di anovularietà cronica può essere fornita da episodi apparentemente banali (impegni scolastici, viaggi, mutamenti delle abitudini di vita, problemi sentimentali, ecc); in ogni caso va indagata l'esistenza di irregolarità mestruali precedenti e va dato peso all'assunzione di farmaci (ipnotici, sedativi) ed alla perdita di peso.

DEFINIZIONE E CLASSIFICAZIONE

L'amenorrea è un segno clinico di frequente osservazione nella pratica medica. Essa può essere l'espressione di lievi dislunzioni delle strutture che controllano ciclicità mestruale o di gravi e più complesse condizioni cliniche. Scopo di questa presentazione è di fornire al medico facili procedure per una diagnosi differenziale delle più comuni cause dell'amenorrea demandando ai centri specializzati le sole condizioni cliniche più complesse. L'amenorrea è definita dalla mancanza della ripetizione ciclica dell'evento mestruale.

- a 14 anni in assenza di uno sviluppo somatico regolare e delle caratteristiche sessuali secondarie
- a 16 anni in presenza di uno sviluppo somatico regolare e di caratteristiche sessuali secondarie
- a qualunque età successiva in donne che avevano avuto in precedenza cicli più o meno regolari per ritmo.

La durata minima del "silenzio mestruale" per poter definire uno "stato amenorroico" è a secondo degli autori di 3 o 6 mesi.

Comunque, indipendentemente da queste rigide definizioni convenzionali (necessarie tuttavia per un corretto inquadramento fisiopatologico del segno clinico) l'amenorrea è l'epifenomeno di una inadeguata interazione tra sistema nervoso centrale (SNC)—ipotalamo (Ipt)—ipofisi (Ipf)—ovaio (O)—utero (U) in una età nella quale normalmente tale interazione è matura e si esprime attraverso gli effetti biologici della produzione ciclica degli ormoni.

Classicamente distinta in amenorrea primitiva o secondaria a seconda se l'evento mestruale non sia mai comparso o sia mancato dopo essere comparso per uno o più cicli, tale distinzione è oggi usata per sola comodità descrittiva.

Le amenorree vengono oggi infatti meglio classificate su base fisiopatologica prendendo come punto di riferimento la funzione ciclica dell'ovaio e muovendo attorno alle disfunzioni dell'asse SNC-Ipt—Ipf-O—U (Fig. 1).

L'evidenza di un flusso mestruale dipende dalla integrità anatomica del tratto che connette i genitali interni, dai quali si origina il flusso, ai genitali esterni dai quali fuoriesce. La produzione dello stesso flusso mestruale inoltre, dipende dalla esistenza di un endo-metrio all'interno della cavità uterina e dal suo sviluppo. Tale sviluppo è stiniolato e regolato ciclicamente da un'adeguata quantità di estrogeni e di progesterone principalmente prodotti dall'ovaio e solo in minima parte prodotti aciclicamente dal compartimento extraovarico. La produzione di estrogeni e progesterone è l'espressione della funzione del follicolo ovarico nel suo sviluppo, dell'ovulazione e della formazione del corpo luteo. La maturazione follicolare è a sua volta determina-

ta da una serie di stimoli costituiti dalle gonadotropine secrete in adeguate quantità e sequenza dalla ipofisi anteriore. La secrezione delle gonadotropine dipende infine, da un peptide specifico, il GnRH (gonadotropin releasing hormone) prodotto dall'ipotalamo e portato all'ipofisi attraverso il circolo portale ipotalamo-ipofisario anteriore. Tutto il sistema di regolazione della secrezione delle gonadotropine è regolato da un complesso sistema che integra informazioni biofisiche modulando i feed-backs tra gli ormoni steroidei e le gonadotropine ipofisarie così come fra questi ed i diversi segnali neuro endocrini ad origine sopraipotalamica.

Per la complessità dei meccanismi che regolano la mestruazione, la semplificazione delle amenorree non è possibile, possiamo tuttavia distinguere tre gruppi di amenorree in ordine ai compartimenti dell'asse SNC-Ipt-Ipf-O-U nei quali si realizza la causa dell'amenorrea.

Il primo gruppo è quello prodotto dalle cosiddette cause anatomiche, il secondo da cause ovariche ed il terzo da quelle ipotalamo-ipofisarie.



Figura 1 Lo studio della paziente amenorroica deve ruotare attorno alla produzione ciclica degli estrogeni e del progesterone, valutando la capacità della unità ipt-ipf di stimolare adeguatamente la maturazione follicolare, determinando la produzione ovarica degli estrogeni e del progesterone, nonché gli effetti biologici ciclici che questi ormoni esercitano sull'endometrio.

I Gruppo: cause anatomiche

Questo gruppo include le anomalie anatomiche che impediscono la produzione e/o la fuoriuscita del flusso mestruale.

La Sindrome di Ashermann (3-5) si realizza per distruzione totale o parziale dell'endometrio cui consegue l'amenorrea. E' spesso prodotta da un curettage abortivo o post-partum che scarica la cavità uterina. Una isterosalpingografia rivelerà la presenza di una serie di sinechie endocavitari che possono essere parziali o complete obliterando alcune aree della cavità uterina, l'orifizio cervicale interno o il canale cervicale. In assenza di altre cause (ovariche o dell'asse SNC-Ipt-Ipf) la funzione ovarica sarà conservata e la temperatura corporea basale (TB) sarà tipicamente ovulatoria (bifasica). Con la stenosi o la chiusura dell'orifizio uterino interno la pressione endocavitaria prodotta dal sangue mestruale produce un'arresto della produzione di sangue endometriale, e la semplice dilatazione del canale può essere risolutiva qualora vi sia una parte di endometrio conservato.

La sindrome di Ashermann può fare inoltre seguito ad interventi chirurgici sul corpo uterino quali un taglio cesareo, una miomectomia o una metroplastica.

Inoltre sono descritte anche rare amenorree "uterine" prodotte da tubercolosi; una cultura del materiale mestruale o di tessuto endometriale biopsizzato può dirimere l'eventuale sospetto diagnostico. La schistosomiasi è un'altra rara causa di amenorrea uterina e le uova possono essere rinvenute nelle urine, nelle feci, nell'endometrio o nel materiale mestruale.

Vanno inoltre segnalate le adesioni intrauterine che si producono a seguito di infezioni intracavitari da IUD e di infezioni pelviche.

Infine le pazienti con sindrome di Ashermann possono presentarsi al medico con una storia di aborti ripetuti, sterilità, dismenorrea o ipomenorrea che ha preceduto l'amenorrea. Nelle pazienti con una storia di aborti ripetuti e/o sterilità, amenorroiche o ipoamenorroiche saranno indicate una isterosalpingografia (ISG) od una isteroscopia.

La sindrome di Ashermann un tempo trattata mediante dilatazione e curettage viene oggi talvolta meglio trattata con la lisi delle sinechie guidata da un isteroscopio. Dopo la lisi verrà inserito in cavità un catetere pediatrico di Foley riempito in sacca con 3 ml di liquido e rimosso dopo 7 gg. Sarà necessario somministrare alla paziente un antibiotico a largo spettro per circa 10 gg. e somministrare una sequenziale di estrogeni naturali e progestinici per due cicli. Se il primo tentativo non sarà risolutivo, saranno necessari ulteriori tentativi per restituire una normale funzione mestruale e riproduttiva alla paziente.

Anomalie del dotto di Müller (2).

Possono determinare imene imperforato, obliterazione dell'orifizio vaginale ed interruzioni del canale vaginale stesso. E ancora, una assenza del collo uterino, del collo e del corpo uterino, della cavità uterina e dell'endometrio. Si tratta di anomalie che determinano una amenorrea primitiva e che possono produrre accumuli di sangue in vagina o in utero fino ad un vero e proprio emoperitoneo. Il trattamento sarà pertanto diretto a rimuovere chirurgicamente l'occlusione ristabilendo una via di fuoriuscita del materiale mestruale.

Agenesie del dotto di Müller (6-9)

Il mancato sviluppo del dotto di Müller è una causa relativamente comune di amenorrea primitiva in pazienti senza una vagina apparente. Chiamata sindrome di Myer-Rokitansky-Kuster-Hanser, la malformazione è percentualmente più frequente della femminilizzazione testicolare ma meno frequente della disgenesia gonadica. Le pazienti mostrano una ipoplasia o una assenza totale della vagina in presenza di un utero normale (interrotto nella sua continuità con il canale vaginale), bicorni o solo presente come abbozzo rudimentale.

Per una diagnosi differenziale con alcune forme di pseudoermafroditismo maschile è talvolta necessario determinare un cariotipo femminile normale. In alcuni casi, laddove sia presente, anche se parzialmente, un endometrio la paziente lamenterà un dolore addominale circa mensile prodotto dal sangue liberato in addome. La paziente inoltre mostrerà una crescita ed uno sviluppo regolare con una funzione ovarica normale facilmente documentabile con il rilievo della temperatura corporea basale e con la determinazione delle concentrazioni basali di progesterone. Sono segnalati rari casi di accertata familiarità della sindrome. Circa un terzo di queste pazienti hanno anomalie del tratto urinario ed il 12% circa hanno anomalie della struttura scheletrica in particolare a carico della colonna vertebrale. Saranno pertanto utili i relativi esami radiologici ed ecografici. Il trattamento di questi casi andrà valutato individualmente in ordine al tipo di malformazione prodotta. La dilatazione progressiva del tratto vaginale o la costruzione chirurgica di una neovagina sono le procedure più utilizzate per stabilire con successo una normale vita di relazione e laddove è possibile un potenziale di fertilità per le pazienti. Le obliterazioni del tratto genitale distale sono le uniche condizioni da trattare con una chirurgia d'urgenza al fine di evitare flogosi severe ed endometriosi. Le raccolte di sangue nel tratto ostruito possono infatti facilmente trasformarsi in raccolte purulente.

La femminilizzazione testicolare (10-11).

È una forma di pseudoermafroditismo maschile e la diagnosi è piuttosto facile rilevandosi all'esame obiettivo ginecologico (EOG) un canale vaginale cieco in assenza di un utero. Si tratta di individui fenotipicamente femmine e geneticamente maschi (cariotipo XY) con la presenza di testicoli che spesso sono ritenuti in addome o parzialmente discesi (il 15% delle pazienti mostra ernie inguinali all'EOG). La mancanza di peli corporei è un'ulteriore caratteristica di queste pazienti. Le pazienti alla nascita sono normali e l'unica osservazione patologica all'esame obiettivo può essere la presenza di ernie inguinali. La crescita normale ed uno sviluppo regolare portano spesso queste pazienti dal medico solo nel periodo della pubertà. Talvolta sono evidenti tratti somatici eunucoidi: braccia lunghe, grandi mani e piedi.

Il seno, benché abbondante, ha uno scarso tessuto ghiandolare e capezzoli piuttosto piccoli. La vagina, cieca e più corta del normale e le tube di Falloppio, rudimentali, sono presenti come cordoni fibromuscolari nelle quali solo raramente sono presenti componenti epiteliali.

Non c'è spermatogenesi e la degenerazione neoplastica di questi testicoli è stata valutata nell'ordine del 50% dei casi con una incidenza di malignità del 22% dei casi. È pertanto indicato rimuovere le gonadi prima della pubertà somministrando una terapia sostitutiva alle pazienti.

È importante ricordare che questa condizione clinica è determinata dalla trasmissione di un gene recessivo legato al cromosoma X responsabile del controllo dei recettori intracellulari per gli androgeni. Infatti queste pazienti hanno livelli di androgeni normali ed un normale metabolismo degli stessi a cui non corrisponde alcun effetto biologico per la non responsività tissutale agli androgeni. L'effetto è pertanto quello di una mancata virilizzazione e di uno sviluppo totalmente femminile. Questa condizione viene oggi più propriamente riferita come sindrome della non responsività congenita agli androgeni.

Sono inoltre da segnalare casi di femminilizzazione testicolare incompleta nei quali si rileva una qualche evidenza degli effetti degli androgeni con un clitoride molto grande o un vero e proprio fallo. Si producono anche i peli pubici, e con essi lo sviluppo del seno. Talvolta una deficienza dell'attività 17-deidrogenasica testicolare può mimare una forma frusta di femminilizzazione testicolare ma poiché il trattamento è simile, la diagnosi differenziale può non essere necessaria.

Va infine ricordato al clinico che si confronti con queste pazienti che esse sono essenzialmente femmine sotto un profilo psicologico e che questa identità lungi dall'essere contrastata, va invece rafforzata. Atteggiamenti clinici diversi ed inopportuni potrebbero rivelarsi dirompenti sulla personalità della paziente con effetti spesso disastrosi.

	Agenesia del dotto di Müller	Femminilizzazione testicolare
Cariotipo	46, XX	46, XY
Ereditarietà	non accertata	materna legata al cromosoma X recessivo, 25% di rischio di mortalità per il figlio, 25% di rischio di trasmissione come portatore
Peli pubici ascellari	femminili	sparsi
Livelli plasmatici di testosterone	normali	normali o modicamente elevati
Altre anomalie	a carico del tratto urinario e dell'apparato scheletrico	rare
Tumori gonadici	incidenze pari a quelle della popolazione di controllo	rischio per oltre il 50%, di cui il 22% con neoplasie maligne

Tabella 1. Diagnosi differenziale tra agenesie del dotto di Müller e femminilizzazione testicolare.

2 Gruppo: cause ovariche

Appartengono generalmente a questo gruppo pazienti per ipergonadotropinemia nelle quali il rapporto FSH/LH è maggiore di 1. La presenza di caratteristiche sessuali secondarie indica che c'è stata in passato una certa attività ovaio.

Sindrome di Turner

Di statura bassa, queste pazienti presentano spesso pterigio, torace a scudo, incapacità di estendere completamente le braccia ed una particolare disposizione dei capelli sul collo a formare tre linee di capelli distinte che scendono sul collo (segno tridente). Questi soggetti hanno una amenorrea ipergonadotropica ipoestrogenica.

La diagnosi è relativamente facile quando si manifesta nella sua forma classica; talvolta possono manifestarsi alcune variazioni della stessa patologia, ed allora la diagnosi può risultare meno facile. Spesso si associano una coartazione dell'aorta e varie malformazioni del sistema urinario. La determinazione di un cariotipo in tutti i casi di ipergonadotropinemia con sospetta Sindrome di Turner permetterà, al di là dell'esame obiettivo della paziente, di diagnosticare la sindrome. Per una diagnosi di sindrome di Turner è necessaria l'evidenza di cromosomi 45, X in una singola linea cellulare.

Mosaicismo

Si tratta di una distribuzione dei cromosomi sessuali in varia combinazione tra loro su linee cellulari di uno stesso individuo. In presenza di un cromosoma Y nel cariotipo di un soggetto nel quale sia stata esclusa una femminilizzazione testicolare vera, è indicata una laparoscopia e/o una laparotomia con asportazione dei testicoli eventualmente ritenuti in addome.

L'asportazione si impone in periodo prepuberale per l'elevato rischio di degenerazione neoplastica dei testicoli e per evitare una virilizzazione dello stesso soggetto.

Alcuni di questi soggetti con mosaicismo anche in assenza di un cromosoma Y (esempio XX oppure XO) possono apparire del tutto normali ma vanno spesso incontro ad una menopausa in età precoce. Questo è probabilmente da attribuire ad una accelerazione della atresia follicolare per l'anomalia cromosomica che caratterizza questi soggetti. Sono spesso pazienti di bassa statura ed hanno nelle loro gonadi una complessa commistione di tessuto gonadico corticale e midollare.

Disgenesia gonadica

Si tratta di soggetti con cariotipo XY, sistema mulleriano palpabile alla visita ginecologica, livelli plasmatici di testosterone normali e mancanza di uno sviluppo sessuale; vengono raggruppati nella cosiddetta sindrome di Swyer. Anche in questa condizione si impone la rimozione chirurgica delle banderelle ovariche quanto prima possibile, allo scopo di evitare una degradazione neoplastica delle stesse.

Agenesia gonadica

E costituita da un quadro clinico caratterizzato da ipogonadismo ipergonadotropo. La causa non è nota.

Sindrome dell'ovaio resistenure

E una rarissima condizione di amenorrea caratterizzata dalla presenza di follicoli ovarici, livelli plasmatici di gonadotropine elevati, cariotipo normale e scarse possibilità di mestruare e/o di avere cicli ovulatori anche con l'impiego di gonadotropine a dosaggi elevatissimi. La diagnosi si ottiene solo mediante esame istologico di almeno 1/3 delle ovaie prelevate mediante laparotomia. La biopsia su prelievo eseguito in corso di lapa-rascopia non è sufficiente per stabilire una diagnosi.

L'esaurimento ovarico precoce (12-15)

Interessa un gruppo di pazienti la cui funzione ovarica si esaurisce prima dei 40 anni. Le mestruazioni sono rare o assenti, le concentrazioni plasmatiche degli estrogeni sono ridotte e quelle delle gonadotropine sono invece elevate.

L'eziologia non è del tutto chiara e alcuni autori ipotizzano che alla base del fenomeno vi siano ovaie con un numero di ovociti ridotti fin dalla nascita e con una tendenza a maturare follicoli che vanno incontro ad una più rapida atresia. Tra i motivi etiopatogenetici vengono comunque indicati fattori genetici ed autoimmunitari, e tra questi ultimi vengono inoltre eccezionalmente riportati casi di esaurimento ovarico precoce che sono espressione di un processo autoimmunitario isolato ma che più spesso sono invece rilevabili in associazione con altre endocrinopatie come il morbo di Addison, le tiroiditi o l'ipoparatiroidismo (tab. 2).

Ipoadrenalismo, ipoparatiroidismo, condidiosi mucocutanea ed esaurimento ovarico
"Smhmidt's syndrome" (morbo di Addison e tiroidite linfocitaria cronica con o senza diabete mellito) ed esaurimento ovarico
Morbo di Addison "idiopatico" (con ipertiroidismo e diabete mellito) ed esaurimento ovarico
Ipoparatiroidismo "idiopatico" ed esaurimento ovarico
Malattia Tiroidea autoimmunitaria (Tiroidite-tireotossicosi) ed esaurimento ovarico
Anemia perniziosa con o senza diabete mellito ed esaurimento ovarico
Diabete mellito, vitiligo ed esaurimento ovarico
Miastenia grave ed esaurimento ovarico
Esaurimento ovarico isolato
Esaurimento ovarico associato con la presenza di anticorpi contro i recettori delle gonadotropine o a difetti di trascrizione della informazione recettoriale

Tabella 2. Associazioni tra esaurimento ovarico precoce ed altre patologie a comune eziologia autoimmunitaria.

La diagnosi di una amenorrea ipergonadotropinica stabilisce la condizione di esaurimento ovarico precoce.

Tuttavia alcune di queste pazienti hanno rari cicli ovulatori con un ritorno delle gonadotropine e degli steroidi ovarici ai livelli normali. E' importante la raccolta anamnestica di alcuni sintomi quali ad esempio le vampate di calore, sudorazioni notturne e conseguenti accessi di tachicardia. Occasionalmente si possono avere gravidanze anche in corso di terapia sequenziale estroprogestinica.

La possibilità di ottenere ovvllazioni con gonadotropine esogene va valutata nei centri di medicina della riproduzione perchè sono riportati casi di ovulazione indotte con tali trattamenti in queste pazienti.

La terapia estrogenica è tuttavia consigliabile per i suoi effetti benefici sul sistema immunitario.

Lo studio di una paziente con esaurimento ovarico precoce deve includere: uno studio della mappa cromosomica, uno studio della funzione tiroidea e surrenalica (vedi tests specifici) con particolare attenzione per gli anticorpi specifici verso antigeni dell'organo interessato dalla disfunzione. Inoltre, per le pazienti che desiderano una gravidanza è importante uno studio istologico del tessuto ovarico prelevato in corso di laparotomia (frustoli di tessuto ovarico prelevati in laparoscopia sono insufficienti) al fine di determinare il patrimonio follicolare residuo e sottoporle in seguito a terapie sequenziali estroprogestiniche o ad induzioni dell'ovulazione.

Qualora infine si rivelino patologie di tipo autoimmune saranno indicate terapie soppressive con corticosteroidi, plasmaferesi o entrambi i trattamenti.

3 Gruppo: cause ipotalamo-ipofisarie

Riunisce le sindromi anovulatorie che costituiscono le cause di amenorrea più frequenti. Sono patologie che si traducono in una aciclicità del sistema Ipt-Ipf-O inquadabili con tre profili di secrezione gonadotropinica:

- a) ridotta
- b) normale
- c) inadeguata

Queste forme di amenorrea escludono, per definizione, una partecipazione dell'ovaio nella loro etiologia e sono principalmente determinate da anomalie dell'unità Ipt-Ipf o aberrazioni della secrezione e/o del metabolismo periferico degli ormoni steroidei.

Nell'ambito di queste circostanze si realizzano una serie di manifestazioni cliniche alcune delle quali caratterizzate da uno squilibrio dei rapporti

tra estrogeni ed androgeni circolanti (aberrazioni del metabolismo ovarico e/o extraovarico degli ormoni steroidei).

Tratteremo qui di seguito per semplicità le condizioni cliniche di questo gruppo che si realizzano con maggiore frequenza nella pratica clinica rimandando, per una trattazione sistematica di tutte le patologie di questo gruppo, ad altri trattati.

I tumori ipofisari (16-66)

L'amenorrea può comparire prima dell'evidenza radiologica di una massa neoplastica. Si tratta generalmente di tumori benigni che tuttavia, per espansione alle strutture topograficamente adiacenti (vedi chiasma ottico), possono determinare emianopsia bilaterale. Alcuni tumori determinano disturbi del campo visivo quando la loro massa si è già espansa notevolmente mentre altri (es. il craniofaringioma) possono determinare anomalie del campo visivo già nelle prime fasi del loro sviluppo.

Talvolta il sospetto di un tumore ipofisario è introdotto dai segni clinici di un'acromegalia (iperproduzione di growth hormone, GH) o di un morbo di Cushing (iperproduzione di ACTH) ed il rilievo di una semplice amenorrea e/o galattorrea può essere l'espressione precoce di un tumore ACTH e/o GH secernente. Qualora si sospetti il primo la determinazione dei livelli plasmatici di ACTH, le concentrazioni di cortisolo nelle urine delle 24 ore e un test di soppressione surrenalica (vedi paragrafo dei tests dinamici) saranno di ausilio diagnostica, qualora invece si sospetti un tumore (iH secernente la determinazione delle concentrazioni plasmatiche di quest'ormone a digiuno ed un test di tolleranza al glucosio (vedi paragrafo dei tests dinamici) definiranno la diagnosi.

Non tutte le masse intrasellari sono di origine neoplastica, sono infatti descritti tuber-colomi, gomme sifilitiche e depositi adiposi che causano compressioni ipofisarie determinando amenorree ipergonadotropinemiche. E ancora, l'aneurisma della arteria carotide interna, l'ostruzione dell'acquedotto del Silvio, l'ischemia e l'infarto ipofisario (sindrome di Sheehan) possono determinare un'amenorrea. Tuttavia è l'adenoma prolattino-secernente il tumore ipofisario più frequente; viene distinto in microadenoma (con diametro < 1 cm) ed in macroadenoma con diametro > 1 cm).

L'apparente incremento di adenomi ipofisari diagnosticati nell'ultimo decennio è da riferire alla possibilità di eseguire determinazioni radioimmunologiche della prolattina (HPRL) ed alla sempre maggiore capacità risolutiva delle tecniche radiologiche usate; sembra invece che l'incremento non sia imputabile ad altri fattori quali ad esempio l'uso della contraccezione orale.

Uno dei maggiori problemi che si incontrano negli studi epidemiologici sull'incidenza di queste neoplasie è quello del diverso destino biologico che ogni tumore ipofisario può avere.

Alcuni tumori infatti hanno uno sviluppo lentissimo e comunque tale da non determinare alcuna sintomatologia nel corso della vita, mentre altri hanno una progressione più rapida determinando quadri completi o incompleti di iperprolattinemia e compressione o perforazioni sellari.

Gli adenomi ipofisari sono di reperto autoptico, in soggetti deceduti per cause diverse, in percentuali che vanno dal 9 al 27%. L'età nella quale vengono rilevati varia dai 2 agli 86 anni con una incidenza maggiore nella sesta decade di vita. Non c'è differenza nella distribuzione tra i due sessi anche se, ovviamente per i disturbi del ciclo mestruale che produce si evidenziano con maggiore frequenza nella donna.

Circa un terzo delle pazienti iperprolattinemiche hanno anche galattorrea mentre un terzo delle donne con galattorrea hanno cicli mestruali regolari. Con l'aumento delle concentrazioni plasmatiche della HRPL si passa da cicli regolari ad una fase luteale inadeguata, e quindi a cicli ovulatori intercalati da cicli anovulatori fino ad un'amenorrea.

Si calcola che circa un terzo delle pazienti con amenorrea secondaria abbia un adenoma ipofisario e, qualora sia presente una galattorrea, circa la metà abbia una sella turcica abnorme. Comunque, la sintomatologia clinica non è sempre correlabile ai livelli plasmatici della prolattina e tumori ipofisari possono essere presenti in pazienti normoprolattinemiche. Livelli plasmatici di prolattina molto elevati si associano frequentemente ad uno stato di amenorrea in presenza di galattorrea.

L'amenorrea associata ad elevati livelli plasmatici di prolattina sembra essere dovuta ad una inibizione di quest'ultima sulla secrezione pulsatile di GnRH.

Il trattamento è:

- a) microchirurgico per via transfenoidale
- b) farmacologico.

La scelta tra i due trattamenti è spesso difficile e sarà decisa di volta in volta a seconda dei casi. L'orientamento terapeutico attuale è il seguente: nei casi con microadenomi hPRL-secrenti senza segni radiologici di sfondamento sellare, trattamento farmacologico con bromocriptina da 2,5 a 7,5 (adeguando la dosologia in funzione dei livelli di bPRL) indefinitivamente, oppure, trattamento con bromoergocriptina per almeno un anno ed asportazione chirurgica dell'adenoma. Il trattamento chirurgico viene oggi quasi esclusivamente riservato ai tumori ipofisari che producono sintomi o segni clinici di compressione ed a quelli nei quali si evidenziano chiaramente segni radiologici di soluzioni di continuità della sella turcica. La imminente possibilità di utilizzare bromoergocriptina ritardata permetterà somministrazioni mensili evitando l'assunzione quotidiana del farmaco.

Circa il 90-95% delle pazienti amenorroiche riacquistano una funzione mestruale più o meno regolare e circa l'80% di queste pazienti che desidera-

no una gravidanza la ottengono con l'uso dello stesso farmaco. Solo il 5-10% delle pazienti iperprolattinemiche con microadenoma mostrano segni di sviluppo del tumore in corso di gravidanza, mentre tale percentuale arriva al 30-40% nei casi con macroadenoma. Ad oggi non esistono controindicazioni all'uso della bromocriptina in corso di gravidanza.

Alcune pazienti con alterazioni radiologiche della sella turcica non hanno formazioni adenomatose dell'ipofisi bensì una sindrome della sella vuota. Questa è dovuta ad un difetto congenito della sella turcica per il quale lo spazio subaracnoideo si estende fino all'interno della fossa ipofisaria. L'ipofisi è così separata dall'ipofisario ed il pavimento sellare può apparire demineralizzato a causa della pressione del fluido cerebrospinale. Questa sindrome può anche prodursi a seguito di interventi chirurgici o trattamenti radioterapici.

Il reperto di una sella vuota si ottiene nel 5% delle autopsie, prevalentemente nelle donne, mentre circa il 4-16% delle pazienti con amenorrea-galattorrea hanno una sella vuota. Talvolta adenoma e sella vuota possono coesistere e quest'ultima può essere il risultato di un infarto parziale e/o totale dello stesso tumore.

La sindrome della sella vuota è una condizione benigna che tuttavia necessita di controlli annuali dei livelli plasmatici della hRPL nonché di studi radiologici della sella.

Amenorrea ipotalamica (56-116)

Sono le amenorree di più frequente osservazione e spesso si manifestano in associazione con situazioni di intenso impegno psicofisico o in rapporto a cali ponderali. Sono caratterizzate da ipogonadismo ipogonadotropo o normogonadotropo. La terapia per queste pazienti sarà l'induzione dell'ovulazione, qualora desiderino una gravidanza, ed una terapia sostitutiva nei rimanenti casi.

L'attenuazione dell'impegno psicofisico e il recupero ponderale consentono spesso di ristabilire una ciclicità mestruale. La terapia di induzione dell'ovulazione deve essere somministrata al solo scopo di ottenere una gravidanza. Qualunque trattamento con induttori della ovulazione (clomifene, gonadotropine esogene, GnRH) al solo scopo di ottenere cicli mestruali è inefficace, inutile e talvolta dannoso. Una forma particolare di amenorrea ipotalamica è quella associata al calo ponderale. Si tratta di pazienti con ipogonadismo ipogonadotropo che ha fatto seguito ad un calo ponderale assoluto superiore al 15% del proprio peso corporeo. Questo gruppo di pazienti riunisce tutta una serie di condizioni cliniche che vanno dal calo ponderale semplice che ha fatto seguito ad una dieta, a quello in cui il calo ponderale si è prodotto in associazione a modificazioni delle abitudini alimen-

tari assunte durante un particolare impegno psicofisico e, per finire, a quello dell'anoressia nervosa, un quadro clinico più complesso ed articolato, nel quale la perdita delle mestruazioni è solo un seguito clinico di una condizione psicofisica più grave.

L'anoressia nervosa si manifesta quasi esclusivamente in giovani ragazze bianche di età media di 25 anni. Con l'amenorrea queste pazienti lamentano costipazione e talvolta dolori addominali. Sono inoltre presenti ipotensione, ipotermia, pelle secca, fine peluria in particolari regioni del corpo (schiena), bradicardia ed edenia. L'ipocaliemia può far seguito ad abuso di diuretici e lassativi o al vomito incipiente. Il rilievo di livelli sierici di carotene elevati indica come questa patologia sia inoltre associata ad una alterata utilizzazione (della vitamina A. Le ragazze anoretriche sono generalmente molto brave nei loro studi e molto attive nella vita extrascolastica. Hanno regole molto severe verso se stesse; l'immagine del loro corpo è distorta, si sentono continuamente troppo grasse, ingombranti, modificando di conseguenza la loro abitudine di vita. Queste ragazze spesso non hanno altri problemi psichici, ma il cibo può talvolta generare vomito in rapporto al pasto stesso. La stessa paziente può vomitare suggestionandosi con la visione del cibo. Il calo ponderale, quando presente, si associa con uno stato ipotensivo.

Sotto un profilo endocrino sono caratterizzate da concentrazioni di FSH ed LH basse, molto simili a quelle delle giovani in età prepuberale, livelli plasmatici di cortisolo elevati a causa di una ridotta clearance metabolica dello stesso, TSH e T4 sono normali, mentre il T3 è bassa ed il reverse-T3 è elevato. Molti sintomi sono l'espressione clinica di uno stato di ipotiroidismo (costipazione, intolleranza al freddo, bradicardia, ipotensione, cute secca, ipercarotinemica e valori di metabolismo piuttosto bassi). Con il recupero ponderale (Tab. 3) tutte queste modificazioni metaboliche si normalizzano. Tuttavia, con il recupero ponderale circa il 30% delle pazienti rimangono amenorriche. Pazienti con calo ponderale progressivo 25% del peso iniziale in associazione ad un habitus mentale tipico dell'anoressia nervosa vanno sempre sottoposte ad un consulto psichiatrico.

Il recupero ponderale e la psicoterapia sono i più importanti mezzi di risoluzione di queste condizioni cliniche. Qualora il recupero di peso fosse lento, è consigliabile l'uso di terapie sequenziali estroprogestiniche. Un legame sentimentale o l'instaurarsi di una gravidanza possono segnare la risoluzione di questa particolare condizione clinica.

Un'altra condizione clinica che rientra nel gruppo delle amenorree è quella dell'amenorrea associata all'esercizio fisico. La pratica sportiva a livello agonistico o per semplici scopi ricreazionali ha avuto un forte incremento negli ultimi anni. Parallelamente a questo incremento si è osservato un aumento dell'incidenza dei disturbi del ciclo mestruale. Amenorrea ed oligoamenorrea aumentano significativamente nelle donne che praticano il fondo, nelle ballerine, nuotatrici, cicliste, giocatrici di tennis, pattinatrici,

sciatrici, ginnaste e giocatrici di palla a volo.

Tra i fattori che predispongono le giovani che praticano sport all'amenorrea sono da segnalare: un menarca ritardato o disturbi mestruali precedenti; lo stress, il numero di chilometri percorsi per allenamento ogni settimana, il calo ponderale e la percentuale di grasso corporeo.

Quale sia il meccanismo etiopatogenetico che porta a queste amenorree è ancora oggetto di studio. comunque due sono le ipotesi che sembrano più fondate.

a) che sia un fenomeno legato allo stress, il quale, a sua volta, interferisce con la normale funzione dell'unità ipf-ipt (via un'anomala produzione di neurotrasmettitori);

b) che le modificazioni metaboliche connesse con la condizione clinica alterino la clearance metabolica degli ormoni che regolano la mestruazione.

Tuttavia, è importante osservare che questo tipo di amenorrea è reversibile:

a) quando si sospende l'attività sportiva;

b) quando gli allenamenti si riducono al di sotto di certi livelli.

Pur non essendo certa la causa che genera questo stato endocrino, la riduzione dello stress legato all'esercizio fisico e/o il recupero di peso relativo sono spesso sufficienti per risolvere spontaneamente il quadro clinico (Tab. 3). Tuttavia, nei casi non risolti una terapia sequenziale estroprogestinica è indicata sia per motivi psicologici che per prevenire i fenomeni di osteoporosi che fanno seguito all'ipoestrogenismo. In caso di desiderio di gravidanza, i trattamenti di induzione dell'ovulazione sono efficaci in un'altissima percentuale di casi.

Amenorrea ed anosmia sono due segni clinici di una rara condizione clinica caratterizzata da amenorrea primaria, caratteristiche sessuali femminili infantili, gonadotropine basse, cariotipo femminile normale, ed incapacità di percepire tutti (anosmia) o alcuni profumi (iposmia).

Anche in questo caso è indicato un trattamento sequenziale con estrogeni naturali e progesterone (o progestinici). Per la eventuale necessità di indurre cicli ovulatori spesso il clomifene è inefficace, mentre le gonadotropine ed il GnRH sono efficaci.

Un'altra forma di amenorrea ipotalamica di comune osservazione è l'amenorrea postpillola; solitamente è di breve durata (circa 6 mesi) e non richiede alcuna terapia.

La terapia sostitutiva è generalmente indicata per pazienti con esaurimento ovarico, amenorrea ipotalamica, e per pazienti ovariectomizzate al fine di evitare il realizzarsi di un processo osteoporotico che si avvia con la stessa rapidità con la quale questo si produce in postmenopausa 0,625 di estrogeni coniugati ogni giorno per 25 gg e ovuli di progesterone (50 mg al giorno), o un progestinico (è preferibile evitare l'impiego dei 19-nor derivati) per gli ultimi 12 giorni sono lo schema consigliato.

Altezza	Sottopeso	Snella	Normale	Robusta	Sovrappeso	Obesa
146	39,2	42,6	46,1	49,6	53,0	59,9
148	40,0	43,6	47,1	50,6	54,2	61,2
150	40,9	44,5	48,1	51,7	55,3	62,6
152	41,8	45,5	49,2	52,9	56,6	63,9
154	42,7	46,5	50,3	54	57,8	65,3
156	43,7	46,5	51,4	55,2	59,1	66,8
158	41,6	48,6	52,5	56,4	60,4	68,2
160	45,6	49,6	53,6	57,7	61,7	69,7
162	46,6	50,7	54,8	58,9	63,0	71,3
164	47,6	51,0	56,0	60,2	64,4	72,8
166	48,6	52,9	57,2	61,5	65,8	74,4
168	49,7	54,1	58,5	62,9	67,3	76,0
170	50,8	55,3	59,8	64,2	68,7	77,7
172	51,9	50,5	61,1	65,7	70,2	79,4
174	53,0	57,7	62,4	67,1	71,8	81,1
176	51,2	59,0	63,8	68,6	73,3	82,9
178	55,4	60,3	65,2	70,0	74,9	84,7
180	56,6	61,6	66,6	71,6	76,6	86,6
182	57,8	62,9	68,0	73,2	78,3	88,5
184	59,1	64,3	69,5	74,7	80,0	90,4
186	60,4	65,7	71,1	76,4	81,7	92,4
188	61,7	67,2	72,6	78,1	83,5	94,4

Sottopeso	=	15% o meno al di sotto del peso medio
Snella	=	7,5-15% al di sotto del peso medio
Normale	=	peso medio calcolato per le donne dall'equazione $P = 9,50e$
Robusta	=	7,5-15% in più del peso medio
Sovrappeso	=	15-30% in più del peso medio
Obesa	=	30% e oltre in più del peso medio

Tabella 3. Vengono riportati i valori del peso medio delle donne giovani in funzione dell'altezza e del loro habitus costituzionale (Sargent DW, Am J Clin. Nutr. 13: 318, 1983).

Ancora meglio, utilizzo di estradiolo (25, 50, 100 ug) per via transdermica (Bstraderm TTS 25, 50 o 100) 2/3 volte la settimana per 3 settimane e mezzo con l'uso di ovuli di progesterone (25/50 mg) o progestinici negli ultimi 12 giorni.

Il ristabilirsi di cicli ovulatori consente la sospensione della terapia. Le pazienti con amenorrea ipotalamica vanno informate che l'eventualità di ovulazioni in corso di terapia è un evento possibile e quindi, in caso di necessità contraccettiva, è assolutamente preferibile l'uso di contraccettivi orali.

La sindrome dell'ovaio micropolicistico (PCO) (15, 120, 121)

La sindrome dell'ovaio micropolicistico è una condizione clinica caratterizzata da ovaie micropolicistiche che secernono una notevole quantità di androgeni. L'iperpiasia delle cellule della teca dà luogo ad una ipersecrezione di androgeni LH-dipendente. La sindrome di Stein-Leventhal è solo un quadro specifico nell'ampio spettro di manifestazioni della malattia che nella sua più ampia definizione (iperandrogenismo ovarico, non tumorale, H-dipendente) è particolarmente frequente e rappresenta una delle maggiori cause di patologia funzionale ginecologica (la terza, dopo il diabete e i distiroidismi).

Lo spettro clinico della malattia è molto ampio. In genere, il primo sintomo è rappresentato dall'oligomenorrea, che segue al menarca e che si accompagna dopo breve tempo a segni di iperandrogenismo. Anamnesticamente si rileva spesso una storia di eccesso ponderale perimenarcale, ed una oligomenorrea che caratteristicamente accompagna queste pazienti fino alla amenorrea vera e propria; un irsutismo di grado variabile è inoltre un'altra caratteristica di possibile rilievo nelle pazienti con PCO. Spesso dovuta ad un adrenarca precoce, può tuttavia manifestarsi anche tardivamente. Obesità ed acne sono di frequente osservazione in queste pazienti. Talvolta non si trova correlazione tra il grado di iperandrogenismo e la severità dell'irsutismo.

Circa il 30% delle pazienti con PCO hanno una amenorrea secondaria ed il 54% ha una oligomenorrea.

Gli elementi diagnostici più significativi sono:

a) la determinazione delle gonadotropine plasmatiche ed il rapporto LH/FSH. L'LH elevato (in genere superiore a 15 mIU/ml), con FSH normale o basso e rapporto LH/FSH superiore a 3 costituisce la forma di più frequente osservazione, il 10-20% dei casi presenta invece rapporti FSH/LH < 3.

b) testosterone elevato, androstenedione elevato, rapporto E1/E2 invertito (> 1).

c) ecografia ovarica (aumento dei diametri con aumento del volume di circa 2,8 volte, contenuto di cisti follicolari circa 20-100).

L'esame celioscopico è di grande importanza in qualunque caso di dubbia interpretazione del quadro clinico. La risposta dell'LH al GnRH può essere aumentata mentre la risposta dell'FSH è normale. La terapia consigliata è una associazione sequenziale inversa tra estradiolo naturale per via transdermica (F.straderm TTS 50 o 100, 2-3 volte la settimana per 4 settimane) e ciproterone acetato (50 mg al giorno per i primi 14 giorni dei 28). La terapia sfrutta, oltre alle proprietà antiandrogeniche del farmaco, anche le capacità soppressive della produzione steroidea ovarica degli estrogeni.

STUDIO ENDOCRINO DELLA PAZIENTE AMENORROICA

Valutazione funzionale dell'unità ipotalamo-ipofisaria (169-171)

L'obiettivo è quello di ottenere una esplorazione funzionale dell'asse ipotalamo-ipofisi-organo bersaglio con il minor numero di esami e con i test di più semplice esecuzione (Fig. 2). Tuttavia, non è possibile diagnosticare con un semplice test l'esistenza di un tumore ipofisario, così come non è possibile utilizzare protocolli diagnostici troppo semplificati per casi particolarmente complessi. Generalmente, la valutazione basale, a riposo, degli ormoni ipofisari e di quelli prodotti dalle ghiandole relative sono sufficienti a determinare disfunzioni dell'asse in esame.

La somministrazione di quattro releasing hormones in rapida successione può essere impiegata come test combinato (Vedi test dinamici) per diagnosticare quelle patologie dell'asse non rilevate dalle valutazioni basali. Qualunque tipo di terapia sostitutiva ed integrativa della funzione deficitaria di un asse ipotalamo-ipofisi-organo bersaglio va instaurata solo dopo avere documentato ineccepibilmente lo stato deficitario sospettato, mai su sole basi presuntive, anche se lo stato deficitario viene supposto a seguito di terapie radianti o chirurgiche.

Valutazione funzionale dell'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio (172-206)

Il principale strumento di valutazione è la determinazione delle concentrazioni sieriche o urinarie delle gonadotropine il dosaggio radioimmunologico fornisce oggi valori correlabili al dosaggio biologico, tuttavia una delle maggiori critiche avanzate dai vari Autori è che una singola determinazione non offre un esatto quadro secretorio dell'unità ipotalamoipofisaria la quale, è noto, produce ed immette in circolo le gonadotropine in maniera pulsatile. Per questo, la determinazione delle stesse gonadotropiie nelle urine (che raccolgono in un'unica determinazione la produzione totale di questi ormoni in un certo arco di tempo) o su tre campioni ottenuti prelevando sangue ogni 20 minuti, sembrano offrire uno strumento diagnostico più attendibile rispetto ad un'unica determinazioie su di un unico campione di sangue.

Con queste premesse, livelli sierici di FSH maggiori di 40 mIU/ml indicano generalmente un esaurimento ovarico, benchè alcune osservazioni più recenti abbiano dimostrato la possibilità dell'esistenza di pazienti con valori di FSH plasmatico elevati e follicoli ovarici responsivi

Concentrazioni sieriche di LH elevate e di FSH normali depongono per

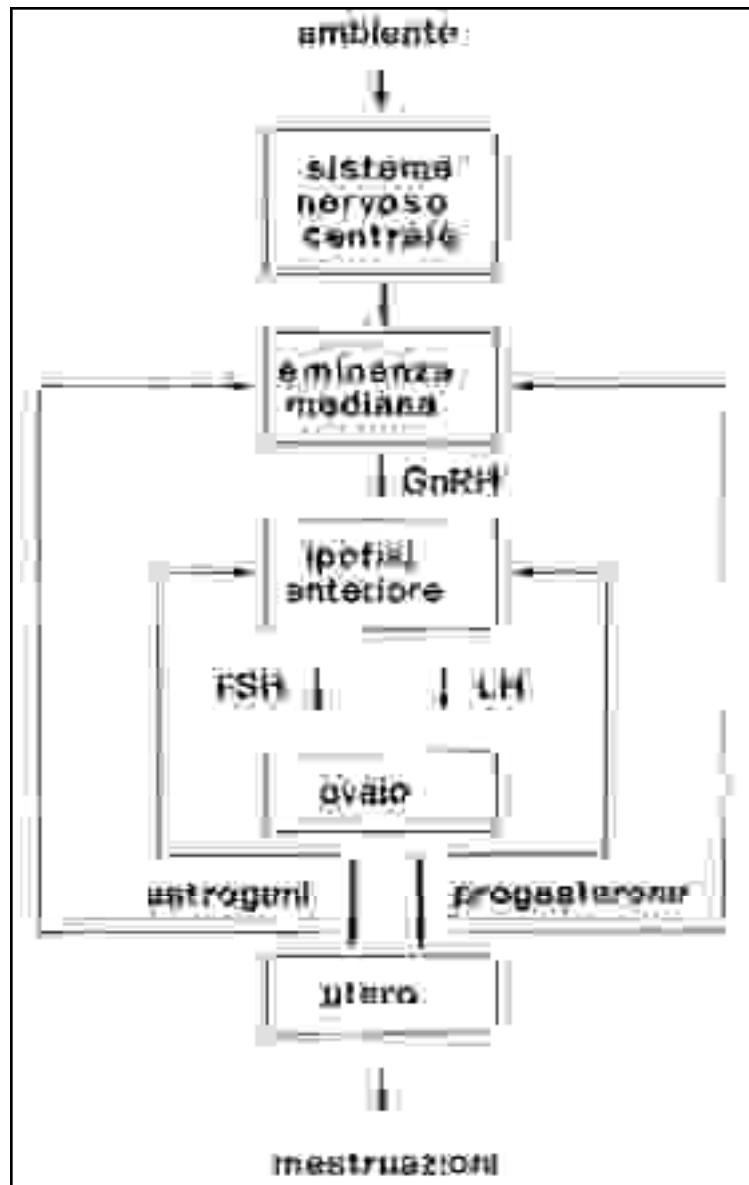


Figura 2. L'amenorrea è l'espressione ciclica di un danno organico o funzionale di una delle strutture deputate alla trasmissione ciclica dei complessi segnali che regolano l'evento mestruale. L'individuazione del livello nel quale si è prodotto il disturbo permette di intervenire miratamente sul sistema inattivato e reso ormai aciclico, consentendo di ottenere spesso riattivazioni della funzione ciclica dell'asse SNC-Ipt-Ipf-ovaio-utero.

l'esistenza di una sindrome dell'ovaio micropolicistico (PCO) o, più raramente, quando tale rilievo è confortato dal peculiare quadro clinico, per una femminilizzazione testicolare. L'80% delle pazienti con PCO hanno livelli sierici di LH > 25 mIU/ml, determinati su di un singolo campione. Esiste tuttavia un gruppo di pazienti con PCO che ha un rapporto tra concentrazioni sieriche di LH ed FSH normale. Concentrazioni sieriche di gonadotropine basse e basse concentrazioni di estradiolo nelle donne amenorroiche orientano la diagnosi verso una amenorrea ipotalamica e comunque verso disfunzioni ipotalamoipofisarie. In presenza di elevate concentrazioni plasmatiche di gonadotropine ma, soprattutto, in presenza di galattorrea ed iperprolattinemia si impone uno studio radiologico della sella turcica al fine di evidenziare l'eventuale presenza di tumori ipofisari. Da segnalare, perché esistenti, rarissime forme di tumori ipofisari ectopici gonadotropino secernenti che determinano concentrazioni plasmatiche di gonadotropine elevate.

Tra i tests impiegati per lo studio della funzione ipotalamo-ipofisi-ovaio segnaliamo il test al clomifene citrato e quello al GnRH (Vedi 1° paragrafo dei Tests dinamici)

Il clomifene sembra agire attraverso una inibizione competitiva dei recettori ipotalamici e/o ipofisari dell'estradiolo inducendo così un aumento dei livelli sierici delle gonadotropine e dell'estradiolo durante i 5 giorni di somministrazione del farmaco. L'assunzione del clomifene determina un picco ovulatorio delle gonadotropine e qualora non si instauri una gravidanza si avrà una mestruazione circa 14 gg dopo.

Alcune pazienti amenorroiche possono rispondere al test con aumento delle concentrazioni sieriche delle gonadotropine (un aumento pari al doppio delle concentrazioni di base) senza un vero picco ovulatorio ed una ovulazione. L'aumento delle concentrazioni delle gonadotropine a seguito della somministrazione del clomifene documenta comunque la capacità dell'ipofisi di secernere gonadotropine e la sua sensibilità agli ormoni steroidei anche in assenza di ovulazione. 100 mg al giorno di clomifene citrato per 5 gg è la posologia sufficiente per l'esecuzione del test. Si campioneranno poi aliquote di sangue necessarie per la determinazione delle concentrazioni sieriche delle gonadotropine dal primo all'ultimo giorno di somministrazione del farmaco ed inoltre, un'aliquota sarà prelevata dopo 2 settimane per la determinazione delle concentrazioni sieriche del progesterone.

La somministrazione di GnRH (preferibilmente alla dose di 100 µg intravenosa rapida evoca un rilascio di FSH ed LH che risulta massimo tra i 15 ed i 30 minuti dopo l'iniezione per l'LH e dopo 30-45 minuti per l'FSH. Tali tempi di risposta possono variare qualora le pazienti stiano assumendo terapie estrogeniche. Queste infatti esaltano la risposta delle gonadotropine al GnRH come si può evincere dalle diverse risposte al test Osservate durante il ciclo mestruale. In periodo prepuberale la risposta di LH ed FSH al GnRH è ridotta con un aumento relativo della risposta dell'FSH rispetto

all'LH mentre durante la pubertà si osservano particolari profili di risposta al GnRH. Risposte simili si possono osservare nelle amenorree ipotalamiche associate a calo ponderale, così come nelle giovani in epoca premenarcale. Le concentrazioni plasmatiche degli estrogeni (che modulano la risposta delle gonadotropine allo stimolo del GnRH ipotalamico ed influenzano lo stesso rilascio di GnRH) sono assolutamente basse a causa dell'ipogonadismo e della ridotta produzione extraghiandolare degli estrogeni già documentata in alcuni gruppi di queste pazienti.

Al di là delle varie risposte, la estrema variabilità individuale al test riduce enormemente l'utilità dello stesso che può solo dimostrare che l'ipofisi è in grado di immettere gonadotropine nel sistema circolatorio in risposta al GnRH. L'utilità del GnRH nell'induzione dello sviluppo puberale in bambini con sindrome di Kallmann, così come nell'induzione dell'ovulazione in una serie di condizioni di anovulatorietà è invece ampiamente riconosciuta.

Valutazione funzionale dell'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide (207-209)

La somministrazione di TRH intravenosa, intramuscolare o, in dosi maggiori, per via orale evoca un pronto rilascio di TSH rilevabile nel sangue con i comuni metodi radioimmunologici.

La somministrazione rapida di TRH e.v. produce un picco delle concentrazioni ematiche di TSH tra i 15 e i 30 mm. tornando ai valori di base entro le 4 ore. Negli individui eutiroidei lo stimolo massimo per il rilascio del TSH è prodotto da 500 mg. Esiste anche in questo caso un'ampia variabilità individuale di risposta.

Pur non producendo gravi effetti tossici, il TRH può provocare entro i primi 5 minuti dalla somministrazione alcuni effetti collaterali quali nausea, vampate di calore, necessità di urinare, acidità, urgenza di liberare l'alvo, ecc.

Generalmente, al di là dei rari casi di ipertiroidismo TRH-dipendente, nei casi di ipertiroidismo non si rileva con un dosaggio radioimmunologico alcun aumento delle concentrazioni sieriche di TSH in risposta al TRH. Una risposta blanda del TSH al TRH nei casi con moderato ipertiroidismo può essere di utilità diagnostica in questa condizione. Nei casi di ipotiroidismo primario, i livelli ematici di TSH sono elevati così come la risposta di quest'ultimo al TRH. Quindi il test non aggiunge niente ad una diagnosi già posta con la valutazione dei valori delle concentrazioni di base. Per contro, il test è diagnostico nei casi di ipotiroidismo secondario nei quali le concentrazioni basali di TRH sono ridotte.

E' infine importante ricordare che l'analisi della risposta al test deve tenere in opportuna considerazione l'interferenza dell'asse tiroide-surrene. Gli ormoni steroidei infatti riducono la secrezione basale di TSH e pazienti con sindrome di Cushing possono non mostrare alcuna risposta di TSH al TRH.

Valutazione della secrezione di prolattina (210-229)

La secrezione dell'hPRL è una secrezione fluttuante che presenta una maggiore variabilità in fase luteale rispetto alla fase follicolare. Essa presenta inoltre variazioni quotidiane con valori di concentrazioni ematiche massime dopo circa 3 ore dall'inizio del sonno.

L'hPRL raggiunge, al termine di una gravidanza, valori plasmatici di 200 ng/ml. Nelle donne che non allattano al seno i livelli di prolattina tornano alla norma entro 2-3 settimane. Caratteristiche risposte ipersecretive di hPRL sono quelle prodotte dalla suzione del capezzolo, ma anche stress psicologici ed interventi chirurgici possono, talvolta, determinare rialzi delle concentrazioni sieriche di hPRL. L'associazione tra iperprolattinemia e galattorrea è di rilievo assai frequente. Tuttavia sono di comune osservazione casi di iperprolattinemia senza galattorrea e viceversa.

Sono stati proposti innumerevoli test di stimolo o inibitori al fine di discriminare pazienti iperprolattinemiche con e senza patologie adenomatose dell'ipofisi, ma ancora oggi il valore della concentrazione di base dell'hPRL sembra costituire il parametro con le migliori capacità diagnostiche.

Nella nostra esperienza valori plasmatici di hPRL maggiori di 100 ng/ml sono altamente indicativi per la presenza di un adenoma ipofisario (micro o macro). Gli esami radiologici della sella turcica ed una valutazione del campo visivo della paziente definiranno la diagnosi. L'esame Rx della sella turcica si impone, comunque, in tutte le pazienti con iperprolattinemia.

La valutazione dell'hPRL su di un singolo prelievo può essere fallace e, soprattutto nei casi di iperprolattinemia borderline, determinazioni sieriche delle concentrazioni di hPRL sono consigliabili nell'arco di alcune giornate, in fase follicolare e secretiva.

Nella valutazione dei casi di iperprolattinemia vanno esclusi gli stati di ipotiroidismo che possono determinare un aumento delle concentrazioni sieriche di hPRL. Nel management clinico di queste pazienti si ricorda che è importante evitare di sottoporre il chiasma Ottico a numerose Rx.

Valutazione della secrezione dell'ormone della crescita (Growth Hormone. GH) (229-258)

Talvolta un disturbo del ciclo mestruale può essere una delle espressioni di una secrezione anomala di GH.

Livelli di GH ridotti si osservano nei casi di ipopituitarismo. Ancora, esistono tumori ipofisari che possono determinare aumenti o riduzioni della secrezione del GH.

Poiché la produzione di GH viene ridotta in presenza di una funzione tiroidea anomala, è necessario valutare la funzione tiroidea e, se anomala,

instaurare una opportuna terapia alcune settimane prima di valutare la produzione di GH.

L'osservazione dei valori dei livelli plasmatici di GH ottenuti da campioni ematici da 60 a 120 minuti dopo l'inizio del sonno, così come quella dei valori ottenuti su campioni prelevati dopo circa 20 minuti da uno sforzo fisico acuto possono essere di notevole utilità per documentare il rilascio di GH.

Tuttavia un vero e proprio test capace di riconoscere gli stati di produzione deficitaria di GH è il test di tolleranza all'arginina-insulina oppure il test all'insulina o ancora quello al L-dopa.

L'uso del GH-releasing factor può essere di aiuto nel distinguere le forme con disturbo ipotalamico da quelle con disturbo primitivo dell'ipofisi.

La diagnosi di ipersecrezione di GH è resa manifesta dell'esame fisico del paziente che presenterà acromegalia e gigantismo. L'attento esame fisico della paziente con una valutazione dei dati anamnestici è già sufficiente per una diagnosi presuntiva e i tests hanno una sola utilità di conferma.

Valutazione della funzione surrenalica

Prima di ogni studio della funzione surrenalica è essenziale stabilire che la paziente sia eutiroidea, perchè una funzione tiroidea anomala determina aberrazioni della secrezione di molti ormoni steroidei.

Al di là di alcune forme di disfunzione surrenalica, come la sindrome di Cushing, nelle quali i segni clinici della malattia sono ormai evidenti (obesità, facies a luna e con un caratteristico rubor al viso, ipertensione, intolleranza al glucosio, disturbi del ciclo mestruale, irsutismo, acne, strie addominali, debolezza, osteoporosi, edema alle gambe, depressione ecc.) esistono una serie di disfunzioni più subdole, meno apparenti che possono tuttavia determinare disturbi del ciclo mestruale.

La valutazione di una iperfunzione surrenalica muove dall'accertamento di una iperproduzione di cortisolo. La valutazione del cortisolo urinario libero in eccesso nelle urine delle 24 ore per tre interi giorni successivi stabilisce definitivamente una produzione di tale ormone in eccesso.

La determinazione dei 17 idrossicorticosteroidi (17-OHCS) urinari, anche se importante sotto un profilo diagnostico, aumenta spesso tardivamente e non costituisce un parametro di rilevamento precoce di uno stato di iperfunzione surrenalica.

La determinazione di tali ormoni per tre giorni successivi è importante perchè anche in alcune forme di Sindrome di Cushing conclamate la secrezione urinaria di ormoni steroidei può essere normale, in alcuni casi, ed anormale in altri.

La determinazione dei 17 chetosteroidi (17KS) urinari non sembra di grande utilità diagnostica, ed il rilievo di concentrazioni di 17K5 urinari

basse, normali o elevate dipende spesso dalla diversa etiologia della disfunzione. Talvolta il rilievo di concentrazioni sieriche di cortisolo che non mostrano le loro tipiche variazioni diurne costituisce il preludio di una vera e propria ipercortisolemia successiva.

Tre o quattro determinazioni di cortisolo nelle 24 ore saranno sufficienti per rilevare queste modificazioni quotidiane. Le sue concentrazioni plasmatiche variano da 50 a 300 ng/ml alle 8 del mattino e si riducono di circa il 50% alla mezzanotte.

Pazienti con Sindrome di Cushing generalmente non mostrano la classica riduzione serale del cortisolo sierico.

Comunque, nonostante esistano importanti variazioni quotidiane, valori di cortisolo maggiori di 50 ng/ml alla mezzanotte sono un indice presuntivo di secrezione di cortisolo anormale.

Una produzione anomala di cortisolo si osserva in gravidanza, in corso di somministrazione con estrogeni, ed in corso di alcune malattie.

Modificazioni della produzione circadiana del cortisolo si possono inoltre rilevare in soggetti normali, in alcune donne obese ed in pazienti con diverse patologie acute e croniche.

Un test di soppressione surrenalica è di grande utilità diagnostica. Si procede determinando il cortisolo plasmatico su di un campione di sangue prelevato alle 8 del mattino, quindi si somministra 1 mg di desametasone per os tra le 23 e le 24, e si determina la concentrazione di cortisolo sul campione di sangue prelevato il mattino seguente. Una soppressione del cortisolo fino a valori di circa 50 ng/ml nel campione mattutino è caratteristica di una risposta normale, mentre rimane intorno a valori di 100 ng/ml in pazienti con sindrome di Cushing.

I dati possono essere falsati qualora la paziente soffra di disturbi psichici acuti o cronici, o ancora stia assumendo estrogeni o contraccettivi orali.

Qualora la determinazione del cortisolo e/o il test qui sopra descritto supportino il sospetto di una sindrome di Cushing sono necessarie altre valutazioni.

La prima verifica sarà condotta mediante il test di soppressione surrenalica, così come standardizzato da Liddle. Si somministrano circa 2 mg di desametasone al giorno (0,5 mg ogni 6 ore) per 2 giorni: nei soggetti normali avremo una riduzione dei 17-OHCS urinari fino a valori inferiori a 3 mg al giorno, oppure inferiori del 50% rispetto ai valori basali.

E' preferibile condurre il test ospedalizzando la paziente al fine di ottenere una raccolta delle urine delle 24 ore completa ed evitando qualunque forma di stress.

Al fine di verificare poi se la sindrome è causata da una regolazione anomala della produzione di ACTH, da una disfunzione surrenalica o da una produzione ectopica di ACTH si procede o con la determinazione delle concentrazioni plasmatiche di ACTH o con un prolungamento del test di

soppressione surrenalica (Vedi il paragrafo dei Tests dinamici)

Concentrazioni plasmatiche di ACTH basse in una condizione di ipercortisolernia saranno suggestive di una patologia primitivamente surrenalica, mentre valori dell'ormone normali o elevati indicheranno che l'ipercortisolemia è ACTH-dipendente.

Se poi non si evidenzia un tumore ipofisario ACTH-dipendente non ci sono altri parametri per determinare una diagnosi differenziale tra produzione ipofisaria o ectopica dell'ACTH.

Con l'impiego del test di soppressione con desametasone ad alte dosi (2 mg 4 volte al dì per due giorni, immediatamente a seguito del test con desametasone a basse dosi) si cerca di differenziare le varie cause di iperfunzione surrenalica. Infatti pazienti con iperplasia surrenalica ipofisario-dipendente (Morbo di Cushing) presenteranno una soppressione dei corticosteroidi urinari e/o plasmatici di almeno il 50% rispetto ai valori di base. Per contro, in pazienti con tumori surrenalici non si osserverà tale risposta neppure quando il desametasone è impiegato a così alte dosi. Rimane invece non diagnosticata la forma che ha origine dai tumori ACTH-secerenti in organi non endocrini. Sono riportate risposte anomale al test, falsi negativi o risposte paradossali (con innalzamento dei valori dei corticosteroidi in risposta al desametasone). Ancora, l'utilizzo di ACTH in vena evoca, nelle pazienti con morbo di Cushing ma non in quelle con tumori surrenalici, un risposta anormale di cortisolo plasmatico mentre il test con metyrapone (Vedi il paragrafo dei Tests dinamici) produce un aumento anormale di 17-OHCS urinari nelle pazienti con iperplasia surrenalica bilaterale e nessun aumento nei casi con tumore surrenalico.

L'ipofunzione surrenalica può essere primaria, per una distruzione delle stesse ghiandole surrenaliche (morbo di Addison) o secondaria ad una inadeguata funzione ipotalamo-ipofisaria con riduzione della secrezione di ACTH ed atrofia surrenalica.

L'ipofunzione surrenalica può essere completa o parziale, acuta o cronica ma l'interesse del clinico è quasi sempre di diagnosticare od escludere la presenza di un tumore.

Due sono le procedure più semplici per la diagnosi in oggetto. La prima utilizza l'iniezione rapida e.v. di ACTH o corticotropina (una subunità sintetica dell'ACTH dotata della completa attività biologica e steroidogenetica dell'ACTH). Concentrazioni plasmatiche di cortisolo vengono determinate su campioni prelevati prima, 60 e 120 minuti dopo l'iniezione. Se le concentrazioni di corticosteroidi aumentano da 7 a 20 ug/L00 ml viene esclusa la diagnosi di morbo di Addison. La seconda procedura consiste nel determinare i 17-OHCS e la creatinina urinari per 24 ore: valori di 2 mg di 17-OHCS per gm di creatinina nelle 24 ore o meno sono suggestivi di una ipofunzione surrenalica.

L'infusione con ACTH per 48 ore (40 unità ogni 12 Ore) è un test

introdotto nella pratica clinica per distinguere una funzione surrenalica normale ed una insufficienza primitiva o secondaria del surrene. La determinazione dei valori dei 17-OHCS sembra costituire il parametro valutativo più efficace nella discriminazione desiderata.

Il test all'insulina è invece probabilmente il test pratico migliore per l'esplorazione della funzione dell'asse ipf-ipf-surrene. L'iniezione cv. di 0,1 unità di insulina per Kg di peso corporeo evoca normalmente un aumento delle concentrazioni di corticosteroidi plasmatici 40-60 minuti dopo. Un aumento da 7 a più di 20 ug di cortisolo per 100 ml di plasma con una soppressione del glucosio ematico di almeno il 500/t costituisce la risposta normale. Il test va condotto con cautela e gli effetti clinici della ipoglicemia acuta transitoria sono di frequente osservazione.

Il metyrapone è una sostanza che inibisce l'attività della 11b-idrossilasi e può essere usata per bloccare la sintesi di cortisolo e corticosterone. Nei soggetti normali questa inibizione previene il feed-back inibitorio dell'ACTH attraverso il cortisolo producendosi una condizione caratterizzata da una secrezione di ACTH aumentata con ulteriore stimolo del surrene. Poichè inoltre la sintesi di cortisolo è bloccata, aumenta la secrezione del 11-desossicortisolo, che può essere determinato mediante il dosaggio del 17-OHCS urinari.

È utile l'uso di un test di stimolo con ACTH l'ultimo giorno del test con metyrapone per differenziare le insufficienze surrenaliche da quelle ipotalamo-ipofisarie. Risposte normali od assenza di risposta al test sono segnalate in casi di ipoadrenalismo ed ipopituitarismo. Risposte deficitarie sono invece osservabili in casi di gravidanza, ipertiroidismo, mixedema ed in pazienti che assumono contraccettivi o fenitoina.

La paziente irsuta

È importante escludere nell'approccio alle pazienti irsute una sindrome di Cushing, la iperplasia congenita del surrene, tumori ovarici e surrenalici.

I primi esami da richiedere sono quelli del testosterone (T), dell'androstenedione (A), e del deidroepiandrosterone solfato (DHS). concentrazioni anormali di questi ormoni sono suggestive della presenza di neoplasie ovariche e surrenaliche; gli ulteriori esami saranno pertanto rivolti all'accertamento della diagnosi presuntiva.

Il sospetto di una sindrome di Cushing indurrà a verificare le concentrazioni urinarie e plasmatiche di cortisolo e 17-OHP.

Ulteriori valutazioni debbono necessariamente essere realizzate in ambienti specializzati.

Se la diagnosi presuntiva di irsutismi dovuti a PCO è oggi di rilievo relativamente facile, quella di altre forme di irsutismo è talvolta più difficile.

Si è cercato di introdurre tests capaci di discriminare l'iperandrogenismo

ovarico da quello surrenalico. Se l'ACTH e l'hCG sono in grado di stimolare la produzione degli ormoni steroidei surrenalici ed ovarici, il desametasone sopprime la produzione degli stessi sia a livello surrenalico che ovarico senza alcuna distinzione tra i due.

La storia clinica della paziente nonché l'esame fisico della stessa sono l'elemento più importante nello studio della paziente irsuta. L'uso degli analoghi del GnRH ha recentemente introdotto la possibilità di discriminare tra la iperproduzione gonadica di androgeni da quella surrenalica quando alla base delle due iperproduzioni si possa escludere una neoplasia.

La determinazione della metabolite clearance rate degli androgeni nonché quella della quota di conversione di alcuni androgeni in altri biologicamente più attivi permetterebbe di ridurre l'entità numerica degli irsutismi che vengono quotidianamente diagnosticati come "idiopatici". A questi ultimi appartengono tuttavia casi con risposta tissutale abnorme e livelli circolanti di androgeni normali. La recente introduzione di tecniche di infusione costante intravenosa degli androgeni e del calcolo dell'aumento relativo delle concentrazioni plasmatiche dei loro metaboliti biologicamente più attivi consente la diagnosi etiologica di alcune forme di irsutismo fino ad oggi non diagnosticate.

Gli effetti degli ormoni steroidei:

a) i genitali esterni (122-133)

L'epitelio vaginale è estremamente sensibile agli ormoni steroidei. Il passaggio con la spatola sulla parete vaginale laterale e la deposizione del materiale sul vetrino di lettura permette di identificare le cellule superficiali, intermedie, parabasali e basali dell'epitelio squamoso stratificato vaginale. Questo epitelio viene a ricambiarsi ciclicamente in rapporto al ciclico variare degli ormoni ed una sua valutazione all'interno dello stesso ambulatorio medico è un utile strumento per stabilire lo status endocrino della paziente. Il campione va raccolto sulla parete laterale del terzo posteriore della vagina. Con le dovute limitazioni del metodo, la valutazione citologica dello spatolato delle cellule di sfaldamento vaginale in assenza di flogosi o altre patologie locali, permette di determinare il grado di estrogenizzazione dell'epitelio vaginale, nonché quello degli eventuali effetti del progesterone.

b) Il muco cervicale (134-140)

Il muco cervicale è un secreto che modifica le proprie caratteristiche chimico-fisiche in rapporto agli ormoni steroidei circolanti. Aberrazioni nella produzione di tali ormoni si riflettono con particolari modificazioni di questo

secreto. Durante il ciclo mestruale, per le variazioni cicliche delle concentrazioni ematiche degli estrogeni e del progesterone, il muco assume fisiologicamente caratteristiche diverse.

Così, in fase follicolare precoce (dal 1° al 7° giorno del ciclo) vengono prodotte piccole quantità di muco denso e ricco di cellule epiteliali cervicali e vaginali, leucociti e masse di muco congiuntinale. Al microscopio non si osserva alcuna arborizzazione (ferning) e tutto questo è documento di una scarsa attività estrogenica od una forte soppressione di tale attività da parte del progesterone.

Successivamente, dall'8° al 21° giorno del ciclo, la produzione di muco aumenta di circa 10 volte da 10-60 mg al giorno fino a 200-700 mg al giorno. La sua viscosità si riduce notevolmente per l'aumento del contenuto in acqua e cloruro di sodio. Il muco diviene così trasparente e molto elastico, e la sua distensione (spinbarkeit) viene utilizzata come espressione di tali modificazioni indotta dagli ormoni. Intorno al periodo ovulatorio, questo muco, portato a secco, presenta al microscopio formazioni arborizzate a forma di falce maschio (ferning) che vengono così utilizzate per riconoscere questo particolare momento del ciclo.

Dopo l'ovulazione, il muco rimane trasparente ed elastico fino a circa la terza settimana del ciclo, tuttavia alcune delle sue caratteristiche iniziano a modificarsi e dalla terza settimana alla fine del ciclo la produzione di muco decresce, lo stesso diametro dell'orifizio esterno del canale cervicale si riduce, l'aspetto arborizzato del muco essiccato scompare e la componente cellulare del muco aumenta; quest'ultimo resta ormai scarso e senza alcuna elasticità.

Uno spinbarkeit di circa 13 cm è indicativo di una fase preovulatoria quando le concentrazioni plasmatiche degli estrogeni sono ai massimi livelli. Il grado di arborizzazione del muco essiccato viene normalmente espresso su una scala da 0 a 4 "+". Quattro "+" indicano una arborizzazione a grandi foglie di felce, generalizzata quando la si osserva sul microscopio a piccolo ingrandimento. Tre "+" indicano una arborizzazione a grandi e piccole foglie uniformemente diffuse. Due "+" indicano una arborizzazione in diverse aree ed un "+" in alcune aree. Un ferning con tre-quattro "+" indica generalmente il periodo preovulatorio.

Un attento esame del muco cervicale è di semplice esecuzione ambulatoriale e può fornire utili informazioni relative alla produzione degli estrogeni e/o di progesterone durante il ciclo mestruale e nella condizione di amenorrea, qualora ci sia una certa produzione di estrogeni.

Il test al progesterone (progestinici) (141)

La somministrazione intramuscolare di 100 rmg di progesterone in olio ed il rilievo di un sanguinamento uterino entro 10 gg dalla iniezione ci

permette di concludere che:

- a) l'ipofisi è in grado di secernere gonadotropine;
- b) in risposta alle gonadotropine l'ovaio produce quantità di estrogeni sufficienti a indurre una proliferazione endometriale
- c) l'endometrio è in grado di rispondere al progesterone come agli estrogeni.

Qualora tuttavia si esegua il test in una paziente con elevata produzione extraovarica di estrogeni il sanguinamento uterino potrà prodursi senza fornire le indicazioni cliniche qui sopra riportate.

In caso di mancata risposta al test (mancanza di un sanguinamento uterino dopo l'iniezione im. di progesterone) è inoltre necessario uno studio più approfondito perché non è possibile ridurre tale risposta negativa ad una mancata funzione dell'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio-endometrio. In alcuni soggetti obesi, infatti, la dismissione del progesterone iniettato potrebbe avere tempi molto lenti e assolutamente diversi da soggetto a soggetto determinando falsi negativi. In ogni caso di assenza di una risposta al test saranno necessari altri e più appropriati studi in centri specializzati.

La determinazione del grado di maturazione ossea (142-155)

Si realizza mediante l'esame comparativo di radiografie del braccio e del polso del soggetto studiato con radiografie di soggetti di riferimento di pari età. Si stabilisce così un'età ossea utile per rilevare anomalie dell'accrescimento. Molte endocrinopatie influenzano il grado di maturazione ossea. L'ipotiroidismo determina frequentemente una statura bassa con una età ossea ritardata rispetto a quella naturale. La sindrome di Cushing nel bambino è caratterizzata da un ritardo di crescita nella quale anche la maturazione scheletrica viene influenzata. L'ipoparatiroidismo insorto prima della pubertà porta ad un ritardo progressivo dello sviluppo epifisale. Anche le pazienti con disgenesia gonadica possono avere un ritardo di crescita scheletrica e/o alcune anomalie scheletriche incluso un particolare accorciamento del 40 metacarpo ed un ridotto sviluppo del piatto tibiale mediale.

Anche una iperplasia congenita del surrene ed una pubertà precoce possono passare attraverso un apparente accrescimento rapido per concludersi con una statura bassa ad accrescimento concluso. Anche nei bambini ipertiroidici è caratteristica l'osservazione di un aumento della crescita associato con una età ossea più avanzata di quella anagrafica. Infine, le condizioni di ipogonadismo con una produzione normale di ormone della crescita (GH) possono determinare una fusione epifisale ritardata determinando l'aspetto eunucoide di questi soggetti.

La valutazione della densità ossea (142-155)

L'esame preferibile, per la sua penetranza diagnostica, per il costo di esercizio e per la praticità d'impiego è la densitometria ossea. Si esegue nelle condizioni di ipoestrogenismo prolungato perché si è visto che, con l'ipogonadismo postmenopausale, si assiste ad una rapida progressione dell'osteoporosi.

La stessa dimostrazione si è ottenuta per pazienti alle quali si erano asportate le gonadi, nelle pazienti iperprolattinemiche in quelle con esaurimento ovarico precoce nonché in quelle con amenorrea ipotalamica.

Poiché l'osteoporosi determina un aumento della fragilità ossea introducendo di fatto una condizione di invalidità, e poiché è possibile fermare la progressione della malattia mediante un trattamento farmacologico, l'esame risulta di particolare significato ed importanza nel management clinico di queste pazienti.

VALUTAZIONE DI ALCUNI POSSIBILI MOTIVI ETIOPATOGENETICI DELL'AMENORREA

L'esame radiografico della sella turcica (156-160)

Si impone nel sospetto di un tumore ipofisario. Il rilievo di un microadenoma con valori plasmatici di hPRL elevati con profili radiologici della sella turcica laterali e anteroposteriori normali impone l'esecuzione di una tomografia assiale computerizzata (TAC). La possibilità di falsi positivi, e di falsi negativi ci obbliga ad interpretare i dati radiografici in funzione di una globale presentazione clinica di queste pazienti.

La ripetizione annuale degli esami radiologici è necessaria per un corretto followup delle pazienti con adenoma ipofisario.

La determinazione di anomalie genetiche (161-168)

In tutti i casi nei quali si osserva una aberrazione della differenziazione sessuale nelle giovani donne in amenorrea con gonadotropine elevate è necessaria una valutazione cromosomica al fine di poter diagnosticare o confermare il sospetto diagnostico di una anomalia genetica.

Esistono oggi una serie di tecniche routinarie in grado di rilevare anomalie della struttura dei cromosomi ed anche quelle del numero dei cromosomi stessi. Uno dei metodi più semplici è quello della valutazione della dimensione della cromatina sessuale (o di Barr) su campioni prelevati dalla mucosa buccale. Poiché le dimensioni della cromatina sono circa le stesse in tutte le femmine dei mammiferi (1 micron circa), aumenti o riduzioni di tali dimensioni sono indicativi di anomalia del cromosoma.

Il cariotipo può essere determinato su ogni cellula umana in cultura anche se i leucociti sono quelli che oggi vengono più comunemente usati, nei casi nei quali vengono sospettati mosaicismi genetici, è necessario determinare il cariotipo su due linee cellulari diverse, come i leucociti ottenuti dal sangue ed i fibroblasti ottenuti dal tessuto connettivo mediante biopsia cutanea.

L'utilizzo di fibroblasti ottenuti dalla biopsia cutanea ovvia generalmente la necessità di una biopsia ovarica per la determinazione del cariotipo.

Valutazione clinica della paziente amenorrea (141, 310-313)

L'anamnesi e l'esame fisico della paziente sono due momenti fondamentali nell'approccio alla donna amenorrea. Una successione delle valutazioni viene riportata nella tavola 4. La diagnosi muove dal principio di

considerare la paziente come l'espressione biologica di una anomala funzione endocrina ed i segni clinici o i sintomi osservati possono essere facilmente inquadrati sulla linea di questo principio.

Particolare attenzione sarà rivolta al rilievo anamnestico delle varie fasi del processo puberale nella loro successione di eventi così come descritta da Marshall e Tanner (1) e nella loro eventuale anomala manifestazione.

L'uso di progesterone o progestinici (in eventuale associazione con estrogeni) ci aiuterà a discriminare le pazienti con amenorrea cosiddetta "uterina". La determinazione di LH ed FSH ci permettono di isolare le amenorree da panipopituitarismo, da anoressia nervosa, da anovulatoria cronica ipotalamica, da sindrome dell'ovaio micropolicistico e da esaurimento ovarico precoce.

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">- Anamnesi- Esame fisico- Test con progesterone- Determinazione delle concentrazioni plasmatiche di LH, FSH, hPRL, TSH, estradiolo, testosterone, deidroepiandrosterone-solfato, T3, T4 (se necessario, cortisolo o 17-idrossiprogesterone)- Test specifici quando risultino indicati |
|---|

Tabella 4. Valutazioni utili nell'approccio della paziente in amenorrea.

Le concentrazioni plasmatiche basali di prolattina ci consentono di individuare una iperprolattinemia con o senza galattorrea.

Il rilievo di valori di prolattina elevati e la loro quantificazione ci permette inoltre di formulare diagnosi presuntiva di tumori ipofisari o delle cosiddette forme idiopatiche. Valori di iperprolattinemia borderline in associazione con uno stato amenorroico ci inducono a determinare i valori della prolattinemia seriamente nell'arco di una giornata e con diverse valutazioni nel tempo, al fine di diagnosticare quelle forme subdole di iperprolattinemia transitoria che sono alla base di un notevole numero di oligoamenorree ed amenorree

La determinazione dei livelli plasmatici di TSH, T3 e T4 ci consentirà di definire se esiste una patologia tiroidea primitiva o secondaria (un ipotiroidismo primario è infatti alla base di un discreto numero di iperprolattinemie) Una Rx della sella turcica sarà pertanto riservata alle sole pazienti iperprolattinemiche eutiroidee allo scopo di rilevare la presenza di un adenoma. Nel sospetto di panipopituitarismo saranno indicati tests specifici di studio della funzione del surrene o della tiroide.

Nelle donne irsute sono importanti la valutazione delle concentrazioni delle gonadotropine e del DS. Valori particolarmente elevati del T o del DS saranno suggestivi per la presenza di tumori ovarici o surrenalici. La determinazione infine dei livelli plasmatici del cortisolo e del 17-idrossiprogesterone sarà di indiscussa utilità nella diagnosi differenziale di iperplasia congenita del surrene e Sindrome di Cushing. Per ulteriori valutazioni diagnostiche si utilizzeranno tests dinamici specifici.

TESTS DINAMICI

Tests al Clomifene Citrato

Il test al Clomifene (177, 206) viene impiegato nella valutazione della funzione dell'asse Ipt-lpf-0 delle pazienti arnenorroiche. Il Clomifene Citrato è un composto non steroideo che agirebbe occupando i siti recettoriali ipotalamici e/o ipofisari per gli estrogeni. L'occupazione di tali siti evoca una secrezione di gonadotropine, la quale induce a sua volta, una produzione di estradiolo. La sequenza di questi eventi può comportare una ovulazione.

Per l'esecuzione del test si procede come segue:

Il Clomifene Citrato viene somministrato per os alle dosi di 100 mg/die per 5 giorni. Non è necessario iniziare la somministrazione dopo l'induzione di una emorragia uterina da privazione qualora la paziente abbia livelli di estrogeni molto bassi.

Vengono campionate aliquote di sangue venoso 1-2 volte al giorno per 15 giorni di somministrazione. Inoltre, si campiona una nuova aliquota 2 settimane dopo la fine dell'assunzione di Clomifene per documentare l'esistenza di una funzione luteale. E' comunque consigliabile un rilievo della temperatura basale. La paziente va informata che potrebbe avere cicli ovulatori e quindi che esiste la possibilità di avere una gravidanza. Vampate di calore, malessere generale, tensione mammaria, alterazioni visive, cefalee, secchezza vaginale sono gli effetti collaterali riportati con l'uso del farmaco. Sono effetti transitori e più legati all'uso prolungato del farmaco nell'induzione dell'ovulazione che non al suo impiego come test. E' frequente l'osservazione di un aumento significativo del volume delle ovaie.

Nel soggetti normali e quelli con un asse ipotalamo-ipofisi-ovario responsivo si evidenzia un aumento di ambedue le gonadotropine sieriche e delle concentrazioni di estradiolo in risposta alla terapia con clomifene. Non è necessario che si verifichi l'ovulazione per documentare che l'asse sia responsivo. L'aumento di due volte i livelli basali delle gonadotropine e specialmente dell'LH sierico, può essere considerato un risultato positivo. Soggetti che non ovulano ma che rispondono con un incremento dei livelli delle gonadotropine a seguito della somministrazione di Clomifene generalmente ovuleranno con somministrazioni maggiori dello stesso farmaco.

Test con GnRH (178-179)

E' utile nella valutazione della secrezione di gonadotropina dall'ipofisi.

Nell'esecuzione del test si procede come segue: una dose di GnRH (100-150 ug) e.v. viene somministrata in 30 secondi, vengono poi campionate

aliquote di sangue venoso a tempi prestabiliti, oppure si procede somministrando simultaneamente i 4 releasing factors sintetici (CFR, GnRH, GRF, TRIL) mediante iniezione endovenosa in successione, a sequenze di 20 secondi, nel seguente ordine e dosi: CRF 1 µg per Kg. GnRH 100 µg, GRF 1 µg per Kg, TRH 200 µg.

Campioni di plasma o siero vengono dosati per ACTH, Cortisolo, GH, hPRL, FSH, LH e TSH e raccolti a vari intervalli fino a 120 minuti dopo l'iniezione.

Sebbene i risultati variano ampiamente tra soggetto e soggetto a seconda delle diverse condizioni cliniche analizzate, in genere dopo l'iniezione del GnRH si determina prontamente un aumento delle concentrazioni delle gonadotropine sieriche, con un picco dei livelli di LH nel siero che si verifica approssimativamente dopo 30 minuti, e dei livelli di FSH circa 45 minuti dopo la somministrazione del GnRH stesso. Gli steroidi gonadici possono modificare in modo rilevante il risultato. La risposta al test rilevata prima della pubertà è ridotta, ma poi aumenta durante gli anni di transizione.

Test con TRH (207-109)

È usato nella valutazione della secrezione di TSH e hPRL dall'ipofisi.

Si procede somministrando una dose di TRH (500 µg) e.v. in 30 sec a cui fa seguito la raccolta di una serie di campioni di sangue venoso a tempi predeterminati. Poiché le concentrazioni di prolattina possono aumentare per lo stress, si consiglia l'uso di un catetere intravenoso a dimora.

Ulteriori indicazioni si possono ottenere mediante la determinazione dei livelli di triiodotironina a 0, +60, +180 minuti dalla somministrazione di TRH.

Il TRH può essere somministrato simultaneamente al GnRH senza alterarne i risultati. Come già detto possono essere somministrati i 4 releasing factors sintetici contemporaneamente in modo sequenziale come test combinato per valutare la funzionalità dell'ipofisi anteriore.

La risposta normale al TRH è per TSH e hPRL immediata, con un picco che si verifica approssimativamente 30 minuti dopo la somministrazione di TRH.

Considerando il TSH, si sono osservate delle risposte abnormi in caso di ipotiroidismo, e molto piccole o assenti nell'ipertiroidismo. Sebbene la risposta sia variabile, le concentrazioni di triiodotironina aumentano in pazienti eutiroidi con una normale sensibilità al TRH. Risposte normali o alterate possono essere osservate in pazienti con lesioni ipotalamiche e/o ipofisarie documentate.

Ancora, risposte normali o alterate si possono osservare in pazienti con lesioni del SNC che interessano l'area ipotalamo-ipofisaria.

Alcuni effetti collaterali transitori si verificano in circa il 70 % dei soggetti

esaminati. Quelli osservati più comunemente sono nausea, una sensazione di vampate di calore al viso, un'urgenza di urinare ed uno strano sapore in bocca. Sono state anche riportate assenze, emicranie transitorie, secchezza delle fauci, una urgenza a defecare, ed edema. Tuttavia non sono stati mai osservati effetti collaterali gravi.

Test con GRF (241)

Si usa per valutare la capacità dell'ipofisi di secernere l'ormone delta crescita (differenziando inoltre una insufficienza ipotalamica da quella ipofisaria).

Si procede somministrando una dose di GRF-40 o GRF-44 pancreatico umano alla dose di 1.0 mg per Kg di peso corporeo in 30 secondi. Vengono poi prelevati campioni di sangue venoso mediante un catetere a dimora per determinare i livelli sierici di GH, a tempi predeterminati dalla somministrazione del GRF. Generalmente dopo 1 ora dalla somministrazione di GRF si raggiungono i picchi massimi dei livelli di GH. Il test può essere eseguito in associazione con l'impiego degli altri ormoni ipotalamici con le modalità già descritte.

Sebbene i risultati del test siano molto variabili, l'incremento del GH si verifica entro 5 minuti dall'iniezione di GRF, e generalmente i livelli massimi si ottengono entro un'ora. Dosi di GRF maggiori di 1.0 µg per Kg determinano generalmente un aumento di GH più sostenuto. Raramente soggetti normali non rispondono al test.

Brevi vampate di calore al viso non accompagnate da alcun cambiamento della frequenza cardiaca sono state osservate in alcuni individui a cui è stato somministrato 1 mg per Kg di GRF e nella maggioranza dei soggetti a cui sono state somministrate dosi maggiori.

Test con CRF (293-295)

Si usa nella valutazione della secrezione di ACTH dall'ipofisi anteriore.

Il test dovrebbe essere eseguito sempre alla stessa ora del giorno per standardizzare le proprie risposte normali. Da alcuni gruppi è stato somministrato CRF alle ore 20 quando i livelli endogeni di ACTH sono bassi, mentre altri lo somministrano il mattino dopo.

Il CRF viene somministrato per via endovenosa in 30 secondi alle dosi di 1 µg per Kg di peso corporeo. Questa dose induce aumenti significativi dell'ACTH ed i massimi incrementi del cortisolo in soggetti normali.

I campioni di sangue per la determinazione dell'ACTH e del cortisolo vengono effettuati a tempi predeterminati dal momento della somministrazione del CRF effettuata mediante un catetere intravenoso. L'ACTH avrà il

suo picco ematico dopo circa 30 minuti mentre il cortisolo dopo circa 90 minuti dalla somministrazione di questa dose di CRF.

Anche il CRF come già si è ricordato può essere somministrato come test combinato agli altri 4 releasing hormones sequenzialmente, per la valutazione della funzione dell'ipofisi anteriore.

I soggetti normali rispondono al CRF umano con un incremento immediato dei livelli di ACTH plasmatico seguito, diversi minuti più tardi, da un aumento dei livelli di cortisolo. La produzione massima di ACTH non viene mai raggiunta, anche con l'impiego di CRF umano a dosi più elevate. Il CRF ovino di sintesi causa prolungate secrezioni di ACTH e di cortisolo anche da dosi minori per la sua minore clearance metabolica. Nei pazienti con morbo di Cushing i livelli basali di ACTH e di cortisolo sono elevati con risposte variabili, anche se generalmente ridotte, al CRF. Nei pazienti con sindrome di Cushing causata da un adenoma surrenalico, i livelli basali di ACTH sono in genere marcatamente soppressi e l'ACTH ed il cortisolo non si elevano in risposta al CRF. Nelle pazienti con insufficienza primitiva del surrene, i livelli basali di ACTH già elevati generalmente aumentano ulteriormente con CRF. I pazienti con insufficienza surrenalica secondaria possono avere sia livelli basali di ACTH bassi e risposta al CRF ridotta oppure bassi livelli basali di ACTH con risposta dell'ACTH plasmatico al CRF prolungata e spesso senza picco. È stato ipotizzato che il primo profilo di risposta possa riflettere la distruzione della ghiandola ipofisaria mentre il secondo potrebbe essere dovuto ad una deficienza del CRF ipotalamico.

Test con L-DOPA (225, 228, 229, 235)

Viene valutata la secrezione di GH e la possibilità di sopprimere la secrezione di prolattina.

Il sistema dopaminergico gioca un ruolo importante nella secrezione del GH e della prolattina. La L-Dopa, contrariamente alla dopamina, attraversa immediatamente dopo l'iniezione e.v. la barriera emato-encefalica. La L-Dopa viene poi convertita a dopamina che agisce a livello ipotalamico. È verosimile che la L-Dopa promuova la secrezione di GRF e del fattore di inibizione della secrezione prolattinica (PIF). Un effetto diretto della dopamina sull'ipofisi con riduzione della secrezione di prolattina non escluso; la dopamina stessa potrebbe essere considerata un vero e proprio PIF.

La procedura di esecuzione del test è la seguente: la L-Dopa (500 mg o 10 mg per Kg di peso corporeo nelle giovani) è assunta per os dalle pazienti poste in clinostasi. Campioni di sangue venoso per la determinazione dei livelli di GH e di hPRL vengono prelevati a 30 minuti di intervallo da 60 minuti prima a 180 minuti dopo l'assunzione di L-Dopa. È opportuno l'uso di un catetere a dimora per possibili effetti dello stress sulla secrezione di prolattina.

In individui normali, i livelli sierici di GH raggiungono un picco tra i 30 e i 20 minuti successivi l'assunzione di L-Dopa. Una risposta positiva è quella nella quale l'incremento della concentrazione di GH è di 5 µg/ml o maggiore (sebbene l'incremento massimo è significativamente più grande nella maggior parte dei casi).

Le concentrazioni sieriche di prolattina generalmente si riducono in risposta a L-Dopa, di più del 50% sebbene sia noto che l'aumento della soppressibilità è inversamente proporzionale ai livelli basali di prolattina.

Un risultato normale del test con GH può occasionalmente non verificarsi anche in soggetti normali. Una secrezione insufficiente di GH dovrebbe essere studiata più attentamente e non solo con un semplice test di stimolo. La secrezione di GH in individui normali è aumentata mediante pretrattamento con dietilstilbestrolo (5 mg due volte al giorno per 3 giorni).

La presenza o l'assenza della soppressione dei livelli di prolattina con L-Dopa non è un test attendibile per distinguere tumori ipofisari da iperprolattinemie disfunzionali. Si sono osservate risposte normali in molte pazienti con tumori prolattino-secerenti.

Nausea e vomito possono verificarsi in circa il 40% dei soggetti esaminati.

Test di tolleranza all'Insulina (251, 234, 260, 261)

È utile nella valutazione della secrezione del GH e della integrità dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene.

Lo stress prodotto dalla ipoglicemia induce una secrezione di GH, corticosteroidi, catecolamine e prolattina. La valutazione del cortisolo sierico costituisce pertanto una valutazione indiretta della secrezione di ACTH. Le risposte normali delle catecolamine e della prolattina a questo stimolo non sono state ancora adeguatamente stabilite.

Si procede con pazienza in clinostatismo, in attento controllo medico per tutta la durata del test. Inoltre durante l'esecuzione dello stesso deve essere disponibile una soluzione glucosata al 50% per la eventuale somministrazione endovenosa. Durante il test pressione e frequenza cardiaca devono essere monitorizzate ad intervalli di 15 minuti.

Viene iniettata insulina per via endovenosa come bolus a dosi da 0.06 a 0.5 unità per Kg di peso corporeo, sulla base della diagnosi sospettata. L'uso di insulina diluita alla concentrazione di 2 unità per ml permette di preparare dosaggi adeguati e con maggiore sicurezza.

Per la valutazione dei livelli di OH, cortisolo e glucosio, i campioni di sangue venoso dovrebbero essere campionati al tempo 0 (prima della somministrazione dell'insulina) e 20, 30, 45, 60 e 90 minuti dopo la somministrazione.

La paziente alla fine del test sarà invitata a mangiare immediatamente.

Per la valutazione della produzione di GH, il test sembra avere una importanza maggiore quando viene eseguito immediatamente dopo una infusione di arginina (come parte di un test di tolleranza con arginina-insulina).

Il test non comporta rischi particolari se un medico è presente durante la sua esecuzione. Si possono verificare sudorazioni transitorie, tachicardie e nervosismi. Se il paziente avesse palpitazioni o perdesse coscienza, il test deve essere prontamente interrotto somministrando glucosio endovena. L'assenza dei sintomi su indicati è suggestiva di una ipoglicemia inadeguata.

I risultati del test non possono essere interpretati quando non si ottiene una riduzione di almeno il 50% del glucosio fino a livelli maggiori di 40 mg per 100 ml ed è in questo caso consigliato di procedere con la ripetizione del test.

Il test è sconsigliato, per i pericoli connessi, nelle pazienti con seven e documentati panipopituitarismi o diabete mellito nonché in età avanzata. E' controindicato inoltre in presenza di malattie ischemiche cardiache ed epilessia.

Un dosaggio di 0,10 unità di insulina per kg di peso corporeo è indicato come test di prima istanza nella maggioranza delle pazienti. Nei casi in cui si sospetta fortemente una insufficienza surrenalica si raccomandano 0,05 unità per kg. Negli individui obesi saranno necessari 0,15-0,2 unità per kg. Le concentrazioni di GH dovrebbero aumentare fino a più di 5 ng/ml o fino a livelli maggiori di 10 ng/ml. Occasionalmente, si può rilevare un'assenza di rialzo del GH anche in soggetti normali.

Test di tolleranza all'arginina (314-316)

Viene determinata la produzione del GH.

La paziente viene sottoposta a digiuno dalla mezzanotte precedente alla mattina del test, quindi si infonde e.v. in 30 minuti una soluzione di arginina idrocloride al 12.SWnin H₂O sterile ad una dose di 500 mg per Kg di peso corporeo.

I campioni di sangue per il dosaggio del OH possono essere prelevati dalla stessa linea intravenosa, prima dell'infusione di arginina (tempo zero) ed a 15,30,45,60 e 90 minuti dall'inizio dell'infusione.

Il test è più efficace quando viene immediatamente seguito da test di tolleranza all'insulina.

L'incremento maggiore nella concentrazione di GH dovrebbe essere di almeno 5 ng/ml o maggiore. Talvolta anche soggetti normali non rispondono al test.

Test di soppressione rapido con Desametazone (303, 307)

È utile per il riconoscimento di una secrezione di ACTH o di una produzione di cortisolo non sopprimibile.

Si preleva un campione di sangue per la determinazione del cortisolo sierico alle 8 del mattino. Si somministra quindi alla paziente 1 mg di desametazone per os alle ore 23 e si preleva un secondo campione di sangue per il cortisolo sierico la mattina seguente alle ore 8.

Negli individui normali, i livelli di cortisolo plasmatico cadono a meno di 5 µg/100 ml, mentre rimangono sopra ai 10 µg/100 ml in pazienti con sindrome di Cushing.

Talvolta soggetti normali possono non presentare la riduzione dei livelli di cortisolo; la mancanza di tale risposta è principalmente imputabile alla produzione pulsatile di cortisolo. Si possono inoltre osservare soppressioni anomale in casi di pazienti con malattie psichiatriche o in pazienti che stanno assumendo composti eterogenici.

Test di soppressione al Desametazone (308)

Viene valutata la possibilità di sopprimere l'asse ipofisi-surrene; specificamente il test è usato per diagnosticare la sindrome di Cushing e cercare di determinarne l'etiologia.

Come glucocorticoide, il desametazone sopprime la secrezione ipofisaria dell'ACTH negli individui normali attraverso il feed-back negativo dei corticosteroidi sulla ghiandola ipofisaria ed ipotalamica. Ogni caduta nella produzione di ACTH comporta ridotte concentrazioni periferiche di corticosteroidi.

L'urina delle 24 ore viene raccolta per almeno 2 giorni prima e durante l'intero periodo di trattamento con desametazone cominciando dalle 8 del mattino. Sulle urine vengono dosati 17 OH CS, 17-KS e creatinina. Si preleva inoltre un campione di sangue per il cortisolo sierico, ogni giorno dalle ore 8.

Il desametazone viene somministrato dalle 8 del mattino del primo giorno di trattamento nel modo seguente:

- 0,5 mg ogni 6 ore per 48 ore (soppressione a "basse dosi")
- 2,0 mg ogni 6 ore per le 48 ore che seguono immediatamente la soppressione a "basse dosi" (soppressione ad "alta dose").

Non ci sono restrizioni di dieta o di attività durante l'intero periodo del test. L'ospedalizzazione è consigliata per assicurare che il farmaco sia assunto e che i campioni di urina siano raccolti correttamente.

Gli individui normali generalmente mostrano una caduta del 17 OH CS da valori fino a 3 mg per 24 ore a valori circa uguale a zero oppure valori inferiori al 50% dei livelli basali durante il primo o secondo giorno della

soppressione a basse dosi con desametazone. Il cortisolo plasmatico generalmente cadrà a meno di 6 µg/100 ml. La soppressione non sarà evidente nelle pazienti con sindrome di Cushing neppure dopo l'estensione del test. In risposta alla somministrazione di desametazone ad "alte dosi" molti pazienti con morbo di Cushing (iperplasia adrenocorticale ACTH dipendente) mostrano una soppressione di almeno il 50% dei corticosteroidi plasmatici ed urinari. La soppressione generalmente non si realizza in modo adeguato nei pazienti con tumori surrenalici anche con il test ad "alte dosi", mentre pazienti con tumori ACTH secernenti rispondono in maniera imprevedibile.

Individui stressati senza malattie endocrine possono non rispondere a 2 mg al giorno di desametazone. Sono riportate risposte paradosse in pazienti con disfunzioni dell'asse ipf-ipt. Questi fattori riducono l'attendibilità del test al desametazone.

Il test può essere utilizzato in pazienti irsute per stabilire la diagnosi di iperplasia surrenalica congenita quando i risultati di altri tests fossero poco chiari. Si dovrebbe avere una pronta soppressione in risposta al desametazone a "bassa dose". L'uso routinario del desametazone per l'accertamento dell'irsutismo non sembra essere giustificato.

Test rapido con ACTH (307)

E' un test rapido per la valutazione della funzione adrenocorticale.

Non è necessario che la paziente sia a digiuno. Si procede prelevando un campione di sangue venoso per il cortisolo sierico. Si iniettano poi 25 unità di ACTH o 250 µg di 1-24 corticotropina, una subunità sintetica dell'ACTH, endovena come bolus, e si prelevano altri campioni di sangue a 60 e 120 minuti dopo l'iniezione per il dosaggio del cortisolo.

Un innalzamento della concentrazione sierica del cortisolo maggiore di 17 µg/100 ml o fino a livelli superiori a 20 µg/100 ml esclude la diagnosi di insufficienza surrenalica.

Una risposta normale non esclude una insufficienza di ACTH, cioè un'insufficienza surrenalica secondaria.

Infusione di ACTH per 48 ore (259)

E' utile nella valutazione della funzione surrenalica e per la identificazione dei pazienti con insufficienza surrenalica primaria e secondaria.

Si raccolgono le urine delle 24 ore per almeno 2 giorni prima del test, durante le 48 ore dell'infusione e per un giorno dopo il termine dell'infusione per il dosaggio di 17-OHCS, 17-KS (di minor valore) e della creatinina.

Si inizia l'infusione endovenosa di 40 unità di ACTH sintetico in 500 ml

di soluzione salina normale, da somministrare in 12 ore, partendo dalle 8 del mattino e continuando per 48 ore, per un totale di 4 dosi somministrate.

E' bene aggiungere alla raccolta dei campioni aliquote di sangue prelevate alle 8 del mattino ed alle 8 di sera per la determinazione del cortisolo sierico.

La paziente può continuare una dieta regolare durante l'intero periodo del test. Le pazienti con sospetta insufficienza surrenalica possono essere tenute sotto una soppressione con desametasone durante il periodo d'infusione.

Roose et al. riportano valori normali delle concentrazioni urinarie di 17-OHCS in quantità superiori a 27 mg nelle 24 ore nel primo giorno d'infusione e maggiori di 47 mg nelle 24 ore del secondo giorno. Le pazienti con insufficienza surrenalica secondaria generalmente hanno una secrezione urinaria di 17-OHCS in quantità maggiori di 4 mg nelle 24 ore nel primo giorno d'infusione. Le pazienti con insufficienza surrenalica secondaria mostrano una debole risposta all'infusione di ACTH per 48 ore e hanno un'escrezione urinaria di 17-OHCS inferiore a 3 mg nelle 24 ore nel primo giorno d'infusione e meno di 4 mg nelle 24 ore nel secondo giorno.

In molte pazienti si può presentare ritenzione idrica, che si pensa sia attribuibile a tracce di ADH che contaminano l'ACTH. Si è notata occasionalmente una ipersecrezione in alcuni soggetti normali nel secondo giorno d'infusione con ACTH probabilmente riferibile ad alti livelli di glucocorticoidi.

Test at Metyrapone (266, 291)

E' diretto a valutare: 1) la riserva di ACTH e 2) per la diagnosi differenziale della sindrome di Cushing.

Il metyrapone blocca l'11 β -idrossilazione e quindi previene la sintesi di cortisolo e corticosterone con conseguente accumulo di 11-deossicortisolo. Nelle donne normali, i livelli di cortisolo ridotti stimolano la secrezione di ACTH che, a sua volta, porta ad un'ulteriore aumento dei precursori del cortisolo escreti come 17-OHCS nelle urine. Dato che il metyrapone blocca debolmente l'attività enzimatica, se ne devono somministrare alte dosi ad intervalli frequenti per provocare il blocco metabolico desiderato.

Alle 8 del mattino, il metyrapone (750 mg) viene somministrato per os ogni 4 ore per 6 volte.

I campioni di sangue venoso per il cortisolo sierico vengono prelevati alle 8 del mattino precedentemente alla prima somministrazione di metyrapone e quindi alle 16 dello stesso giorno e alle 8 del giorno seguente.

La raccolta delle urine delle 24 ore per 17-OHCS e creatinina viene eseguita per almeno 2 giorni prima del giorno della somministrazione del metyrapone, durante il test e per 4 giorni dopo il giorno di somministrazione.

Come proposto dal Liddle et. al. Vengono somministrate 500 unità di ACTH in 500 ml di soluzione fisiologica durante 8 ore del terzo giorno dopo la somministrazione del metyrapone. La determinazione dei livelli di cortisolo sierico può essere fatta a 0,4 e 8 or dall'inizio della infusione di ACTH.

Come definito dal gruppo di Liddle una risposta normale è considerata quando le concentrazioni di 17-OHCS urinari superano di due volte almeno i valori di controllo, oppure arrivano a 10 mg nelle 24 ore, sia nel giorno di trattamento seguente la somministrazione di metyrapone.

Bibliografia

1. Marshall W.A., Tanner J.M.: Variations in the pattern of pubertal changes in girls". *Arch. Dis. Child.* 44: 291, 1969.
2. Speroff L., Glass R.H., Kase N.G.: "Amenorrhea". In *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, L. Speroff, R.H. Glass. N.G. Kase. (eds), William and Wilkins, Baltimore/London p. 141, 1983.
3. Schenker J.G., Margalioth E.J.: "Intrauterine adhesions: an updated appraisal". *Fertil Steril* 37: 593,1982.
4. Toaff R., Ballas S.: "Traumatic hypomenorrhea-amenorrhea (Asherman's syndrome)". *Fertil Steril* 30: 379, 1978.
5. March C.M., Israel R., March A.D.: "Hysteroscopic management of intrauterine adhesions". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 130: 653, 1978.
6. Griffin J.E., Edwards C., Ladden J.D. Harrod M.J., Wilson J.D.: "Congenital absence of vagina". *Ann. Intern. Med.* 85: 224, 1976.
7. Frank R.T.: "Formation of artificial vagina without operation". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 35: 1053, 1938.
8. Wabrek A.J., Millard P.R., Wilson W.B. Jr., Pioon R.J.: "Creation of neovagina by the Frank monoporative method". *Obstet. Gynecol.* 37: 408. 1971.
9. Maciulla G.J., Heine M.W., Christian C.D.: "Functional endometrial tissue with vaginal agenesis". *J. Reprod. Med.* 21: 373, 1978.
10. Swanson J.A., Chapler F.K.: "Renal anomalies in the XY female". *Obstet. Gynecol.* 51: 237. 1978.
11. Morris J.M., Mahesh V.B.: "Further observation on the syndrome «stesticular feminizations»" *Am. J. Obstet. Gynecol.* 87: 731, 1963.
12. Sutton C.: "The limitations of laparoscopic ovariann biopsy". *J. Obstet. Gynecol. Commonwl.* 81: 317, 1974.
13. Tulandi T., Kinch R.A.: "Premature ovarian failure". *Obstet. Gynecol. Surv.* 36:

521, 1981.

14. Rebar R.W., Erickson G.E., Yen S.S.C.: "Idiopathic premature ovarian failure: clinical and endocrine characteristics". *Fertil. Steril.* 37: 35, 1982.
15. Yen S.S.C.: "Chronic anovulation caused by peripheral endocrin disorders". In *Reproductive Endocrinology*, S.S.C. Yen, and R.B. Jaffe, (eds), Second Edition W.B. Saunders Company, Philadelphia/London p. 441, 1986.
16. Blackwell R.E.: "Diagnosis and management of prolactinomas". *Fertil. Steril.* 43: 5, 1985.
17. Board J.A., Storlazzi E., Schneider V.: "Nocturnal prolactin levels in infertility". *Fertil. Steril.* 36: 720, 1981.
18. Ehara Y., Siler T., Vandenberg G., Sinha Y.N., Yen S.S.C.: "Circulating prolactin levels during menstrual cycle: Episodic release and diurnal variation". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 117: 962, 1972.
19. Nachtigall R.D., Monroe S., Wilson C.B., Jaffe R.B.: "Prolactin-secreting pituitary adenomas in women: VI. Absence of demonstrable adenomas in patients with altered menstrual function and abnormal sellar polytomography". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 140: 303, 1981.
20. Burrow G.N., Wortzman G., Rewcastle N.B., Holgate R.C., Hovacs K.: "Microadenomas of the pituitary and abnormal sellar tomograms in an unselected autopsy series". *N. Engl. J. Med.* 304: 156, 1981.
21. Kleinberg D.L., Noel G.L., Frantz A.G.: "Galactorrhea: a study of 235 cases, including 48 with pituitary tumors". *N. Engl. J. Med.* 296: 589, 1977.
22. Woosley R.E., King J.S., Talbert L.: "Prolactin-secreting pituitary adenomas: neurosurgical management of 37 patients". *Fertil. Steril.* 37: 54, 1982.
23. Schlechte J., Sherman B., Halmi N., Van Gilder J., Chaplen F.K., Dolan K., Granner D., Duello T., Harris C.: "Prolactin-secreting pituitary tumors". *Endocr. Rev.* 1: 295, 1980.
24. Thorner M.O., Martin W.H., Rogol A.D., Morris J.L., Perryman R.L., Conway B.P., Howards S.S., Wolfman M.G., MacLedd R.M.: "Rapid regression of pituitary prolactinomas during bromocriptine treatment". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 51: 438, 1980.

25. Cornblum B., Hanley D.A. : "Bromocriptin reduction of prolactinoma size". *Fertil. Steril.* 36: 716, 1981.
26. Choidini P., Liuzzi A., Cozzi R., Verge G., Opizzi G., Dallabonanza D., Spelta B., Silvestrini F., Borghi G., Luccarelli G., Rainer E., Horowsky R.: "Size reduction of macroprolactinomas by bromocriptine or lisuride treatment". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 53: 737, 1981.
27. Valentzas C., Carras D., Vassilouthis J.: "Regression of pituitary prolactinoma with bromocriptine administration". *J.A.M.A.* 245: 1149, 1981.
28. Shucart W.A.: "Implications of very high serum prolactin levels associated with pituitary tumors". *J. Neurosurg* 52: 226, 1980.
29. Spark R.F., Baker R., Beinfang D.C., Berland R. : "Bromocriptine reduces pituitary tumor size and hyper-secretion: requiem for pituitary surgery?". *J.A.M.A.* 247: 311, 1982.
30. Thorner M.O., Tindall G.T., Kovacs K., Horvath E.: "Human prolactinomas and bromocriptine: a histologic immunocytochemical, ultrastructure and morphometric study". *The Endocrine Society Program. Abstract 227*, 1982.
31. Archer D.F., Lattanzi D.R., Moore E.E., Hargeri J.H., Herbert D.L. : "Bromocriptine treatment of women with suspected pituitary prolactin-secreting microadenomas". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 143: 620, 1982.
32. Vaughn T.C., Haney A.F., Wiebe R.H., Kramer R.S., Hammond C.B.: "Spontaneous regression of prolactin-producing pituitary adenomas". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 136: 980, 1980.
33. Koppelman M.C.S., Jaffe N.J., Rieth K.G., Caruso R.C., Loriaux D.L.: "Natural history of hyperprolactinemia, galactorrhea and amenorrhea". *The Endocrine Society Program, Abstract 22*, 1982.
- 33a. Jasonni V.M., Fuschini G., Bulletti C., Ferraretti A.P., Cristiani P., Franceschetti F., Bonavia M.: "Test dinamici nella diagnostica delle iperprolattinemie". *Giorn. It. Ostet. Gynecol.* 3: 653, 1981.
- 33b. Flamigni C., Jasonni V.M., Fuschini G., Bulletti C., Montevecchi P., Ferraretti A.P.: "Diagnostic and therapeutic problems of hyperprolactinemia in women". *Acta. Europ. Fertil.* 11: 247, 1980.
34. Crossignani P.G., Ferrari C., Scarduelli C., Picciotti M.C., Caldara R.,

- Malinverni A.: "Spontaneous and induced pregnancies in hyperprolactinemic women". *Obstet. Gynecol.* 58: 708, 1981.
35. Bergh T., Nillius S.J., Wide L.: "Clinical course and outcome of pregnancies in amenorrhic women with hyperprolactinemia and pituitary tumors". *Br. Med. J.* 1: 875, 1978.
36. Jewelewicz R., Vande Wiele R.L.: "Clinical course and outcome of pregnancy in twenty-five patients with pituitary microadenomas". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 136: 339, 1980.
37. Coulam C.B., Annegers J.F., Abboud C.F., Laws E.R. Jr., Kurland L.T.: "Pituitary adenoma and oral contraceptives: a case-control study". *Fertil. Steril.* 31: 25, 1979.
38. McCormick W.F., Halmi N.S.: "Absence of chromophobe adenomas from a large series of pituitary tumors". *Arch. Pathol.* 92: 231, 1971.
39. Krause H.E.: "Neoplastic diseases of the human hypophysis". *Arch. Pathol.* 39: 343, 1945.
40. Sheline G.E.: "Untreated and recurrent chromophobe adenomas of the pituitary". *Radiology* 112: 768, 1971.
41. Costello R.T.: "Subclinical adenoma of the pituitary gland". *Am. J. Pathol.* 12: 191, 1936.
42. Speroff L., Levin R.M., Haning R.V. Jr., Kase N.G.: "A practical approach for the evaluation of women with abnormal polytomography or elevated prolactin levels". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 135: 896, 1979.
43. Monroe S.E., Levine., Chang R.J., Keye W.R. Jr., Yamamoto M., Jaffe R.B.: "Prolactin-secreting pituitary adenomas: V. Increased gonadotropin responsibility in hyperprolactinemic women with pituitary adenomas". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 52: 1171, 1981.
44. Knobil E.: "The neuroendocrine control of the menstrual cycle". *Recent Prog. Horm. Res.* 36: 53, 1980.
45. Hardy J., Beauregard H., Robert F.: "Prolactin-secreting pituitary adenomas: transsphenoidal microsurgical treatment" in *Progress in Prolactin Physiology and Pathology*, Robyn C., Harter M., eds, Elsevier-North Holland, Amsterdam. 978, pp. 361-369.

46. Post KD., Biller BJ. Adelman L.S., Molitch ME., Wolpert SM., Reichlin S.: "Selective transsphenoidal adenomectomy in women with galactorrhea-amenorrhea" *JAMA*. 242: 158, 1979.
47. Tucker HS., Grubber SR., Wigand JP., Taylon A., Lankford HV., Blackard W.G., Becker D.P.: "Galactorrhea-amenorrhea syndrome: follow-up of 45 patients after pituitary tumor removal". *Ann. Intern. Med.* 94: 302, 1981.
48. Parkes D.: "Bromocriptine" *N. Engl. J. Med.* 301: 873, 1979.
49. Cuellar F.G.: "Bromocriptine mesylate (Parlodel) in the management of amenorrhea/galactorrhea associated with hyperprolactinemia" *Min. Ginecol.* 35: 13, 1981.
- 49a. Jasonni V.W., Fuschini G., Bulletti C., Montevicchi P., Ciotti P., Franceschetti F., Cristiani P.: "Induzione dell'ovulazione con bromocriptina: I risultati ottenuti in 120 pazienti affette da iperprolattinemia" *Min. Ginecol.* 35: 13, 1981.
50. Wasa J.A.H., Mout PJA., Thorner MO., Dacie J.E., Charlesworth M., Jones A.E., Besser G.M.: "Reduction of pituitary-tumor size in patients with prolactinomas and acromegaly treated with bromocriptine with or without radiotherapy". *Lancet* 2: 66, 1979.
51. Magyar D.M., Marshall J.R.: "Pituitary tumors and pregnancy". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 132: 739, 1978.
52. Gemzell C., Wang CF.: "Outcome of pregnancy in women with pituitary adenoma". *Fertil. Steril.* 31: 363, 1979.
53. Torkalj I., Braun P.: "Surveillance of bromocriptine in pregnancy". *J.A.M.A.* 247: 1598, 1982.
54. Hodgson S.F., Randall RV., Holman C.B., MacCarty CS.: "Empty sella syndrome". *Med. Clin. North Am.* 56: 897, 1972.
55. Swanson JA., Sherman B.M., Vann Gilder JC., Chapler F.K.: "Coexistent empty sella and prolactin-secreting microadenoma". *Obstet. Gynecol.* 53: 258, 1979.
56. Carr D.B., Bullen BA., Skrinar G.S., Arnold MA., Bettins I.Z., Martin JB., McArthur JW.: "Physical Conditioning facilitates the exercise-induced secretion of beta-endorphin and beta-lipotrophin in women". *N. Engl. J. Med.* 305: 560, 1981.

57. Smith N.J.: "Excessive weight loss and food aversion in athletes simulating anorexia nervosa". *Pediatrics* 66: 139, 1980.
58. Fries H.: Secondary amenorrhea, self-induced weight reduction and anorexia nervosa". *Acts Psychiatr. Scand., Suppl.* 248. 1974.
59. Tagatz G., Fialkow P.J., Smith D., Spadoni L.: "Hypogonadotropic hypogonadism associated with anosmia in the female". *N. Engl. J. Med.* 282: 1326. 1970.
60. Jacobs H.S., Knuth U.A., Hull M.G.R., Franks S.: Postpill amenorrhea-cause or coincidence?". *Br. Med. J.* 2: 940. 1977.
61. Tolis G., Ruggere D., Popkin D.R., Chow J., Boyd M.E., De Leon A., Lalonde A.B., Asswad A., Hendelman M., Scali V., Koby R., Arronet G., Yufe B., Tweedie F.J., Fournier P.R., Naftolin F.: "Prolonged amenorrhea and oral contraceptives". *Fertil. Steril.* 32: 265, 1979.
62. Kilbanski A., Neer R.M., Beitins I.Z., Ridgway E.C., Zervas N.T., McArthur J.W.: "Decreased bone density in hyperprolactinemic women". *N. Engl. J. Med.* 303: 1511, 1980.
63. Cann C.E., Martin M.C., Genant K.H.: "Detection of premenopausal amenorrhoeic women at risk for the development of osteoporosis". *The Endocrine Society Program, Abstract* 474, 1982.
64. Selby P.L., Peacock M.: "Dose dependent response of symptoms, pituitary, and bone to transdermal oestrogen in postmenopausal women". *Br. Med. J.* 293: 337, 1986.
65. Crip A.G., Palmer R., Kalucy R.S.: How common is anorexia nervosa: a prevalence study". *Br. J. Psychiatr.* 128: 549, 1976.
66. Robboy M.S., Sato A.S., Schwabe A.D.: "The hypercarotenemia in anorexia nervosa: a comparison of vitamin A and carotene levels in various form of menstrual dysfunction and cachexia". *Am. J. Clin. Nutr.* 27: 362, 1974.
67. Warren M.P., Vande Wiele R.L.: "Clinical and metabolic features of anorexia nervosa". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 117: 435, 1973.
68. Vigersky R.A., Andersen A.E., Thompson R.H., Loriaux D.L.: "Hypothalamic dysfunction in secondary amenorrhea, associated with simple weight loss". *N. Engl. J. Med.* 297: 1141. 1977.

69. Warren M.P., Jewelewicz R., Dyrenfurth I., Ans R., Khalaf S., Vande Wiele R.L.: "The significance of weight loss in the evaluation of pituitary response to LH-RH in women with secondary amenorrhea". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 40: 601, 1975.
70. Hsu L.K.G., Crisp A.H., Harding B.: "Outcome of anorexia nervosa". *Lancet* 1: 61. 1979.
71. Speroff L., Redwine D.B.: "Exercise and menstrual function". *Physician Sportsmed.* 8:42, 1980.
72. Frisch R.E. : "Food intake, fatness, and reproductive ability, in Anorexia nervosa". Vigersky RA., Raven Press. New York, 1977, pp. 149-160.
73. Warren M.P.: "The effects of exercise on pubertal progression and reproductive function in girls". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 51: 1150, 1980.
74. Shangold MM., Gastz ML., Thyssen B.: "Acute effects of exercise on plasma concentrations of prolactin and testosterone in recreational women runners". *Fertil. Steril.* 35: 699, 1981.
75. Speroff L., Redwine D.B.: "Exercise and menstrual function". *Physician Spor. Med.* 8: 42, 1980.
76. Trussel J., Frisch R.E. : "Menarche and fitness: re-examination of the critical body composition hypothesis". *Science* 200: 1506, 1978.
77. Vigersky RA., Andersen A.E., Thompson RH.: "Hypothalamic dysfunction in secondary amenorrhea associated with simple weight loss". *N. Engl. J. Med.* 296: 1141, 1974.
78. Warren M.P.: "The effects of exercise on pubertal progression and reproductive function in girls". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 51: 1150, 1980.
79. Wentz AC.: "Body weight and amenorrhea". *Obstet. Gynecol.* 54: 482, 1980.
80. Zhamel K.: "Fencing in relation to menstrual cycle and gestatiots". *J. Sports Phy. Fitness* 11: 120. 1971.
81. Perel E., Killinger D.W.: "The interconversion and aromatization of androgens by human adipose tissue". *J. Steroid Biochem.* 10: 623, 1979.
82. Rougier G., Linqette Y.: "Menstruation and physical exercise". *Press medical*

70: 1921, 1962.

83. Sanborn CF., Martin BJ., Wagner W.W.: "Is athletic amenorrhea specific to runners?". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 43: 859. 1982.
84. Schneider J., Baralow H.L., Strain G.: "Effects of obesity on estradiol metabolism: decreased formation of non uterotrophic metabolites". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 56: 973. 1983.
85. Schwartz B., Rebar R.W., Yen S.S.C.: Amenorrhea and long distance running". *Fertil. Steril.* 34: 306. 1980.
86. Schwartz B., Cumming D.C., Biordam E., Selge M., Yen S.S.C., Rebar R.W.: "Exercise-associated amenorrhea: a distinct entity?". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 141: 662, 1981,
87. Shangold M., Freeman R., Thysen B., Gatz M.: "The relationship between long-distance running plasma progesterone and luteal phase length". *Fertil. Steril.* 31: 130. 1979.
88. Lin. I.J., Billiar R.B., Little B.: "Metabolic clearance rate of progesterone in the menstrual cycle". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 35: 879, 1972.
- 88a. Sargent D.W.: "Weight-height relationship of young men and women". *Am. J. Clin. Nutr.* 13: 318, 1963.
89. Malina R.M., Spirduso W., Tate C., Baylor AM.: "Age of menarche and selected menstrual characteristics its athletes at different competitive levels and different sports". *Med. Sci. Sports* 10: 128, 1978.
90. Jaffe RB.: "The role of ovarian steroids in regulation of hormonal event in human menstrual cycle, in: Gives JR. and Flamigni C. (eds), *Basis Science and Clinical aspects in female*". Academic Press. London and New York, pp. 12b, 1981.
91. Jones N.K., Campbell E.J.M., Edwards R.H.T., Robertson D.J.: "Clinical exercise testing". Philadelphia, Pa: Saunders 47-53, 1975.
92. Jurkowski J.E., Jones ML., Walker W.C., Youglai EV., Suttom JR.: "Ovarian hormonal responses to exercises". *J. AppJ. Physiol.* 44: 109. 1978.
93. Keizer HA., Poortman J., Bunnik G.S.J. : "Influence of physical exercise on sex hormone metabolism". *J. Appl. Physiol.* 48: 765. 1980.

94. Frisch RE., Camick J.A., Tulchinsky D.: "Human fatty narrow aromatizes androgen to estrogen". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 51: 39, 1980.
95. Frisch RE., Wyshak G., Vincent L.E.: "Delayed menarche and amenorrhea in ballet dancers". *N. Engl. J. Med.* 303: 17. 1980.
96. Frisch RE., Wyshak G., Vincent L.E.: "Delayed menarche and amenorrhea in ballet dancers". *Medical Intelligence* 303: 17. 1980.
97. Frisch R.E., Gotz-Welbergen A.V., McArthur J.W., Albright J., Witschi J., Bullen B., Birnholz J., Reed R.B., Herman H.: "Delayed menarche and amenorrhea of college athletes in relation to age of onset of training". *JAMA.* 246: 1559, 1981.
98. Geigy J.R.: "Documenta Geigy, Tables scientifiques". (Edited by J.R. Geigy). J.R. Geigy.A.. 6th edition, Base (1963) p. 634.
99. Grimby G.: "Renal clearances during prolonged supine exercise at different loads". *J. Appl. Physiol.* 20: 1294, 1965.
100. Harrys D.V: "Secondary amenorrhea limited to stress". *Phys. Sport Med.* 6: 24. 1978.
101. Feicht C.B., Johnson F.S., Martin B.J., Sparkes K.E., Wagner W.W.: Secondary amenorrhea in athletes". *Lancet* 2: 1145, 1978.
102. Fishman J., Boyyar R.M., Hellman L.: "Influence of body weight on estradiol metabolism in young women". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 41: 989, 1975.
103. Frisch R.E., Revelle R.: "Height and weight at menarche and a hypothesis of menarch". *Arch. Dis. Child.* 46: 695, 1971.
104. Frisch R.E.: "Weight at menarche: similarity for well-nourished and under-nourished girls at different ages. and evidence for historical constancy". *Pediatrics* 50: 445, 1972.
105. Frisch R.E., Mac Arthur J.W.: "Menstrual cycles: fatness as a determinant of minimum weight for height necessary for their maintenance or onset". *Science* 185: 949, 1974.
106. Casper R.F., Wollkinson D., Cotterell M.A.: "The effects of increased output on luteal phase gonadal steroids: an hypothesis for runners amenorrhea". *Fertil. Steril.* 41: 364, 1984.

107. Dale E., Gerlach D.H., Martin D.E., Alexander C. R.: "Physical fitness profiles and reproductive physiology of the female distance runner". *Physician Sports Med.* 7: 83, 1979.
109. Erdely G.J.: "Gynecological survey of female athletes, AMA Proceedings of the Second National Conference on the Medical Aspects of Sports". November, 1960 *J. Sports Med.* 2: 174, 1982.
110. Erdely G.J.: "Effect of exercise on the menstrual cycle". *Physician Sports Med.* 4: 79, 1976.
111. Eriksson B.O., Engstrom L., Karlberg P., Lundin A., Saltin B., Thoren C.: "Long-term effect of previous swimtraining in girls: a 10 years follow-up on the "girls-swimmer". *Acta Paediatr. Scand.* 67: 285, 1978.
112. Baker E.R.: "Menstrual dysfunction and hormonal status in athletic women: a review". *Fertil. Steril.* 36: 691, 1981.
113. Baker E.R., Mathur R.S., Kirk R.F., Williamson H.O.: "Female runners and secondary amenorrhea correlation with age, parity, mileage and plasma hormonal and sex hormone binding globulin concentrations". *Fertil. Steril.* 36: 183, 1981.
114. Bulletti C., Jasonni V.M., Bolelli G.F., Franceschetti F., Ferraretti AP., Bonavia M., Flamigni C.: "Reduced conversion of dehydroepiandrosterone into estrogens in women having hypogonadotropic hypogonadism associated with weight loss". *J. Steroid. Biochem.* 24: 1205, 1986.
115. Bulletti C., Jasonni V.M., Naldi S., Cristiani P., Flamigni C.: "Reduced conversion of dehydroepiandrosterone into estrogens in premenarchal girls". *J. Endocrinol. Invest.* 9: 375, 1986.
116. Jasonni V.M., Bulletti C., Fuschini G., Ferraretti AP., Cristiani P., Bonavia M.: "Mathematical evaluation of gonadotropin basal levels in hypothalamic chronic anovulation". *Acta Europaea Fertilitatis* 13: 39, 1982.
117. Jasonni V.M., Bulletti C., Cristiani P., Fuschini G., Ferraretti A.P., Bonavia M., Flamigni C.: "Estrogens provocation test: lack of correlation between LH and 17 β -estradiol basal levels and LH peak response in hypothalamic chronic anovulation". *Acta Europaea Fertilitatis* 13: 101, 1982.
118. Bulletti C., Jasonni V.M., Fuschini U., Bolelli G.F., Franceschetti F., Ricciardelli E., Flamigni C.: "La sterilità nelle amenorree da anoressia nervosa: considera-

- zioni su 20 casi, in «Fertilità e Sterilità», Cittadini E., Gasparri F., Maneschi M., (eds) Atti del VI Corso di aggiornamento sulla sterilità coniugale, Firenze 14-16 Maggio, p. 651, 1981.
119. Flamigni C., Venturoli S., Filicori M., Bulletti C., Paradisi R.: L'ovaio policistico considerazioni etiopatogenetiche istopatologiche biochimiche, diagnostiche e terapeutiche" *J. Endocrinol. Invest.* 3 (suppl. 2): 181, 1980.
 120. Speroff L., Gloss R.H., Kase N.G.: "Anovulation in clinical gynecologic endocrinology and infertility", Speroff L., Gloss R.H., Kase N.G. (eds), Williams and Wilkins, Baltimora/London p. 185, 1983.
 121. Papanicolau G.N., "The sexual cycle in the human female as revealed by vaginal smears". *Am. J. Anat.* 52: 519, 1933.
 122. Frost J.K.: "Gynecologic and Obstetric cytopathology", in Novak E.R.. And J.D. Woodruffl (eds), Novak's Gynecologic and Obstetric Pathology, 7th ed., W.B. Saunders Co., Philadelphia, p. 634, 1974.
 123. Rakoff A.E.: "Hormonal cytology in gynecology". *Clin. Obstet. Gynecol.* 4: 1045, 1961.
 124. Papanicolau G.N.: "A new procedure for staining vaginal smears". *Science* 95: 438. 1942.
 125. Wied G.L.: "Importance of the site from which vaginal cytologic smears are taken". *Am. J. Clin. Pathol.* 25: 742, 1955.
 126. Papanicolau G.N.: "General survey of vaginal smear and its use in research and diagnosis". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 52: 1023. 1946.
 127. Wied G.L.: "Techniques for collection and preparation of cytologic specimens". *Clin. Obstet. Gynecol.* 4: 1031, 1961.
 128. Wied G.L.: "Suggested standard for karyopyknosis: use in hormonal reading of vaginal smears". *Fertil. Steril.* 6: 61, 1955.
 129. Wied G.L., Boschann H.W., Ferin J., Frost J.K., Luksch F., Meisels A., Montalvoruiz L., Terzano G., Teter J., Wachtel E.: "Symposium on hormonal cytology". *Acta Cytol.* 12: 87, 1968.
 130. Riley G.M., Dontas E., Gill B.: "Use of serial vaginal smears in detecting time of ovulation" *Fertil. Steril.* 6: 86, 1955.

131. Del Castillo E.B., Argonz J., Calli Mainini C.: "Smears from the female urethra and their relationship to smears of the urinary sediment". *J. Endocrinol. Metab.* 9: 1362, 1949.
132. Collect-Solberg P.R., Grumbach M.M.: "A simplified procedure for evaluating estrogenic effects and the sex chromatin pattern in exfoliated cells in urine. Studies in premature thelarche and gynecomastia of adolescence". *J. Pediatr* 66: 883. 1965.
133. Pommerenke W.T.: "Cyclic changes in the physical and chemical properties of cervical mucus". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 52: 1023. 1946.
134. Moghisi K.S.: "Cyclic changes of cervical mucus in normal and progesterin-treated women". *Fertil. Steril.* 17: 63, 1966.
135. MacDonald R.R.: "Cyclic changes in cervical mucus". *J. Obstet. Gynecol. Br. Commonw.* 76: 1090, 1969.
136. Moghissi K.S.: "Composition and function of cervical secretion", in Greep, R.O. (ed), *Handbook of Physiology, Endocrinology II, Part. 2*, American Physiological Society, Washington, DC, P. 25, 1973.
137. Clift A.F.: "Observation on certain rheological properties of human cervical secretion". *Proc. R. Soc. Med.* 39: 1, 1945.
138. Birnberg C.H., Kurzok R., Laufer A.: "Simple test for determining ovulation time". *J.A.M.A.* 166: 174, 1958.
139. Moghissi K.S., Syner F.N., Evans T.N.: "A composite picture of the menstrual cycle". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 114: 405, 1972.
140. Kletzky O.A., Davajan V., Nakamura R.M., Thorneycroft I.H., Mishell D.R. Jr.: "Clinical categorization of patients with secondary amenorrhea using progesterone-induced uterine bleeding and measurement of serum gonadotropin levels". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 121: 695, 1975.
141. Greulich W.W., Pyle S.I.: "Radiographic Atlas of Skeletal Development of the hand and Wrist", 2nd ed Oxford University Press. London. 1959.
142. Meema S., Meema H.E.: "Menopausal bone loss and estrogen replacement" *Isr. J. Med. Sci.* 12: 601, 1976.
143. Genant H.K., Cann C.E., Ettinger B., Gordan G.S. : "Quantitative computed

- tomography of vertebral spongiosa: A sensitive method for detecting early bone loss after oophorectomy" *Ann. Intern. Med.* 97: 699, 1982.
144. Cann C.E., Genant H.K., Ettinger B., Giordan G.S.: "Spinal mineral loss in oophorectomized women. Determination by quantitative computed tomography". *JAMA.* 244: 2056, 1980.
 145. Klibanski A., Neer R.M., Beitling I.Z., Ridgway E.C., Zervas N.T., McArthur J.W.: "Decreased bone density in hyperprolactinemic women". *New Engl. J. Med.* 303: 1511, 1980.
 146. Cann C.E., Martin M.C., Genant H.K., Jaffe R.B.: "Decreased spinal mineral content in amenorrhoeic women". *JAMA*, 251: 626, 1984.
 147. "Health and Public Policy Committee of the American College of Physicians, radiologic methods to evaluate bone mineral content". *Ann. Intern. Med.* 100: 908, 1984.
 148. Wahner H.W., Dunn W.L., Riggs B.L.: "Noninvasive bone mineral measurement". *Sem. Nucl. Med.* 13: 282, 1983.
 149. Mazess R.B.: "On aging bone loss", in *Clin. Ortho.* 165: 237, 1982.
 150. Johnston C.C. Jr., Epstein S.: "Clinical, biochemical, radiographic, epidemiologic, and economic features of osteoporosis". *Ortho. Clin. North. Am.* 12: 559, 1981.
 151. Barnett E., Nordin B.: "The radiologic diagnosis of osteoporosis". *Clin. Radiol.* 11: 1166, 1960.
 152. Cameron J.R., Sorenson J.: "Measurement of bone mineral in vivo: An improved method". *Science* 142: 230, 1963.
 153. Mazess R.B., Repler W.W., Chesney R.W., Lange T.A., Lindgren U., Smith E. Jr.: "Does bone measurement on the radius indicate skeletal status? Concise communication" *J. Nucl. Med.* 25: 281, 1984
 154. Awbre B.J., Jacobson C., Grubb S.A., McCartney W.H., Vincent L.M., Talmage R.V.: "Bone density in women: A modified procedure for measurement of distal radial density". *J. Ortho. Res.* 2: 314, 1984
 155. Deck M.D.F.: "Radiographic and radioisotopic techniques in diagnosis of pituitary tumors in Kohler P.O., and Ross G.T., (eds), *Diagnosis and treatment*

- of Pituitary Tumors". Excerpta Medica, Amsterdam. p. 71, 1974.
156. Hardy J.: "Transsphenoidal surgery of hypersecreting pituitary tumors, in Kohler P.O., and Ross G.T. (eds), *Diagnosis and Treatment of pituitary*", Excerpta Medica. Amsterdam, p. 179, 1974.
 157. Brisman R., Hughes E.O., Holub D.A.: "Endocrine function in 19 patients with empty sella syndrome" *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 34: 570, 1971.
 158. Sheline G.E.: "Untreated and recurrent chromophobe adenomas of the pituitary". *Radiology.* 12: 768. 1971.
 159. Weisberg L.A.: "Asymptomatic enlargement of the sella turcica". *Arch. Neurol.* 32: 483, 1975.
 160. Rebar R.W., Erickson G.F., Yen S.S.C.: "Idiopathic premature ovarian failure: Clinical and endocrine characteristics". *Fertil. Steril.* 37: 35, 1982.
 161. Barr M.L., Bertram E.G.: "A morphological distinction between neurones of the male and female and the behavior of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis". *Nature* 163: 676, 1961.
 163. Ohno S., Steinsius C., Christian L.C., Becak W., Becak M.L.: "Chomositssal uniftsrminy in the avian sxinb-class carimsatae. *Chromosoma* 15: 280. 1964.
 164. Tjio J.H., Levan A.: "The chromosome number in man". *Hereditas* 42: 1, 1956.
 165. Seabright M.: "A rapid banding technique for human chromosomes". *Lancet* 2: 971, 1971.
 166. Summer A.T.: "Acid saline Giemsa Banding". *Mammalian chromosome Newsletter* 13: 31, 1972.
 167. Caspersson T. Zech L.: "Analysis of human metaphase chromosome set by aid of DNA-binding fluorescent agents". *Exp. Cell. Res.* 62: 490, 1970.
 168. Pearson P.L. Brobow M.: "Technique for identifying Y chromosomes in human interphase nuclei". *Nature* 226: 78, 1970.
 169. Woolf P.D., Jacobs L.S. Donofrio R., Burday S.Z., Schalch DS.: "Secondary hypopituitarism: Evidence for continuing regulation of hormone release". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 38: 71, 1974

170. Harsoulins P., Marshall J.C., Kuku S.F., Burke C.W., London D.R., Fraser T.R.: "Combined test for assessment of anterior pituitary function". *Br. Med. J.* 4: 326, 1973
171. Rakoff J., Vannenberg G., Siler T.M., Yen S.S.C.: "An integrated direct functional test of the adenohipophysis". *Am. J. Obstet. (Gynecol.* 119: 358, 1974.
172. Sheldon W.R. Jr., DeBold CR., Evans W.S., McCherney C.S., Jakson R.V., Island D.P., Thorner M.O., Orth D.N. : "Rapid sequential intravenous administration of four hypothalamic releasing hormones as a combined anterior pituitary function test in normal subjects". *J. Clin. Endocrinol Metab.* 60: 623, 1985.
173. Dufal M.I. Mendelson C.R., Catt K.J.: "A highly sensitive in vitro bioassay for luteinizing hormone and chorionic gonadotropin: testosterone production by dispersed Leydig Cells". *J. Clin Endocrinol. Metab.* 39: 610, 1974.
174. Ross G.T.: "Biological methods for measurement of gonadotropin in man and their clinical application, in Sunderman F.W., and Sunderman F jr, (eds), *Laboratory Diagnosis of Endocrine Disease*". Warren H. Green. Inc., St. Louis, p. 138, 1971.
175. Vaitukatis J.L., Braustein G.D., Ross G.T.: "A radioimmunoassay which specifically measures human chorionic gonadotropin in the presence of human luteinizing hormones". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 113: 751, 1972.
176. Schreiber J.R., Reban R.W., Chen H.C., Ilodgen GD., Ross GT.: "Limitatioo of the specific serum ra-diinsimmunoussay for human chorionic gonadotropin in the management of trophobalastic neoplasm". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 125: 705, 1976.
177. Mecklenburg F.: "Altered LRF responsiveness in amenorrhic women" *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 39: 1005, 1974.
178. Kase N.: "Introduction of ovulation with clomiphene citrate" *Clin. Obstet. gynecol.* 16: 192. 1973.
179. Rebar R.W., Yen S.S.C, Vanderberg G., Naftolin F., Ehara Y., Engblom S., Ryan K.J., Rivier J., Amoss M., Guillemin R.: "Gonadotropin responses to synithetic LRF: Dose-response relationship in men" *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 36:10, 1973.
- 180 Yen S.S.C.. Rebar R., Vandenberg G. Ehara Y., Siler T.: "Pituitary gonadotropin

- responsiveness to shynthetic LRF in subjects with normal and abnormal hypothalamic-pituitary-gonadal axis" J. Reprod Fertil 20: 137, 1973.
- 181 Yen S.S.C., Vandenberg G., Siler TM : "Modulation of pituitary" responsiveness to LRF by estrogen". J. Clin. Endocrinol. Metab. 39: 170, 1974.
- 182 Yen S.S.C., Vandenberg G., Rebar R., Ehara Y.: "Variation of pituitary responsiveness to shynthetic LRE during different phases of the menstrual cycle" J. Clin Endocrinol. Metab 35: 93. 1972.
183. Lasley B.L., Wang C.F., Yen S.S.C: "The effects of estrogen and progesterone on the functional capacity of the gonadotrophs". J. Clin. Endocrinol Metab. 41: 820. 1975.
184. Keye W.R. Jr., Jaffe R.B.: "Strength-duration characteristics of estrogen effects on gonadotropin response to gonadotropin-releasing hormone in man. Effects of varyng duration of estradiol administration". J. Chin. Endocrinol. Metab. 41: 1003, 1975.
185. Job J.C., Garnier P.E., Chaussain J.L., Milhaud G.: "Elevation of serum gonadotropins (LH and FSH) after releasing hormone (LH-RH) injection in normal children and in patients with disorders of puberty". J. Clin. Endocrinol. Metab. 35: 475, 1972.
186. Grumbach M.M., Roth J.C., Kaplan S.L., Kelch R.P.: "Hypothalamic-pituitary regulation of puberty in man: Evidence and concepts derived from clinical research", In Grunbach M.M., Grave G.D., Mayer F.E., (eds), "The Control of the Onset of Puberty". John Wiley & Sons, New York. 1974, p. 115.
187. Yen S.S.C., Rebar R., Vandenberg G., Judd H.: "Hypothalamic amenorrhea and hypogonadotropinism: responses to LRF". J. Clin. Endocrinol. Metab. 36: 811, 1973.
- 188 Mortimer C.H., Besser G.M., McNeilly A.S., Marshall J.C., Harsoulis P., Tunbridge W.M.G., Gomez-Pan A., Hall R.: "Luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone-releasing hormone test in patients with hypothahamic-pituitary gonadal dysfunction" Bur. Med. J. 4: 73. 1973.
- 189 Reid R.L., Leopold G.R., Yen S.S.C.: "Introduction of ovulation and pregnancy with pulsatile luteinizing hormone-releasing factor: Dosage and mode of delivery" Fertil. Steril. 36: 553, 1981.
190. Meldrum D.R. Chang R.J., Lu J., Vale W., Rivier J., JudoH.L.: "«Medical

- oophorectomy» using a long-acting Gn-RH-a possible new approach to the treatment of endometriosis” *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 54: 1081, 1982.
191. Chen H.C., Ayala R., Hodgen G.D., Berken S., Canfield R.E., Ross G.T.: “First specific assay for chorionic gonadotropin in human urinary extracts” *Clin. Res.* 24: 375A, 1976.
 192. Ryan R.Y.: “A comparison of biologic and immunologic potency estimates of human luteinizing (LH) and follicle stimulating (FSH) hormones”. *Acta Endocrinol. Metab.* 33: 558, 1971.
 193. Nankin H.R., Troen P.: “Repetitive luteinizing hormone elevation in serum of normal men”. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 33: 558, 1971.
 194. Yen S.S.C. Tsai C.C., Nafolin F., Vandenberg G., Ajabor L.: “Pulsatile patterns of gonadotropin release in subjects with and without ovarian function”. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 34: 671, 1972.
 195. Santen R.J., Bardin C.W.: “Episodic luteinizing hormone secretion in man” *J. Clin. Invest.* 52: 2617, 1973.
 196. Kulin H.E., Bell P.M., Santen R.J., Ferber A.J.: “Integration of pulsatile gonadotropin secretion by timed urinary measurements: An accurate and sensitive 3-hour-test”. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 40: 783, 1975.
 197. Hansen J., Hoffman P.G., Ross G.T.: “Monthly gonadotropin cycles in premenarcheal girls”. *Science* 190: 161, 1975.
 198. Goldenberg R.L., Grodin J.M., Rodbard D., Ross G.T.: “Gonadotropins in women with amenorrhea” *Am. J. Obstet. Gynecol.* 116: 1003, 1973.
 199. Rebar R.W.: “Hypergonadotropic amenorrhea and premature ovarian failure: A review”. *J. Reprod. Med.* 27: 79, 1982.
 200. Yen S.S.C., Vela P., Rankin J.: “Inappropriate secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in polycystic ovarian disease”. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 30: 435, 1970.
 201. Judd H.L., Hamilton C.R., Barlow J.J., Yen S.S.C., Klimann B.: “Androgen and gonadotropin dynamics in testicular feminization syndrome”. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 34: 229, 1972.
 202. Rebar R., Judd H.L., Yen S.S.C., Rakoff J., Vandenberg J., Naftolin F.: “Chara-

- cterization of the inappropriate gonadotropin secretion in polycystic ovary syndrome". *J. Clin. Invest* 57: 1320, 1976.
203. Nyder P.J., Sterling F.H.: "Hypersecretion of LH and FSH a pituitary adenoma". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 42: 544, 1976.
204. Igarashi M., Ibuki Y., Kubo H., Kamioka J., Yokota Y., Ehara Y., Matsumoto S.: "Mode and site of action of clomiphene" *Am. J. Obstet. Gynecol.* 97: 120. 1968.
205. Vaitukaitis J.L., Bermudez, J.A., Cargille C.M., Lipsett M.B., Ross G.T.: "New evidence for an anti-estrogenic action of clomiphene citrate in women" *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 32: 503, 1971.
206. Jacobson A., Marshall J.R., Ross G.T., Cargille C.M.: "Plasma gonadotropins during clomiphene-induced ovulatory cycles". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 102: 284, 1968.
207. Yen S.S.C., Vela P., Ryan K.J.: "Effect of clomiphene citrate in polycystic ovary syndrome: Relationship between serum gonadotropin and corpus luteum function". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 31: 7, 1970.
208. Gershengorn M.C., Weintraub B.D.: "Thyrotropin-induced hyperthyroidism caused by selective pituitary resistance to thyroid hormone: A new syndrome of «inappropriate secretion of TSH». *J. Clin. Invest.* 56: 633, 1975.
209. Snyder P.J., Utiger R.D.: "Inhibition of thyrotropin response to thyrotropin-releasing hormone by small quantities of thyroid hormones". *J. Clin. Invest.* 51: 2007, 1972.
210. Franco P.S., Hershman J.M., Haigler E.D. Jr., Pittman J.A. Jr.: "Response to thyrotropin-releasing hormone compared with thyroid suppression test in euthyroid Grave's disease". *Metabolism* 22: 1357, 1973.
211. Canfield C.J., Bates R.W.: "Nonpuerperal galactorrhea" *N. Engl. J. Med* 273: 897, 1965.
212. Tolis G., Somma M., van Campenhout J., Friesen H.: "Prolactin secretion in sixty-five patients with galactorrhea" *Am. J. Obstet. Gynecol.* 118: 91, 1974.
213. Boroditsky R. S., Faiman C.: 'Galactorrhea~ameorrhoea due to primary hypothyroidism *Am. J. Obstet. Gynecol.* 116: 661. 1973.
214. Friesen H. G : "Human prolactin in clinical endocrinology: the impact of radioimmunoassays" *Metabolism* 22: 1039, 1973.

215. Fournier P.J.R., Desjardins D., Friesen H. G.: "Current understanding of human prolactin physiology and its diagnostic and therapeutic applications. A Review" *Am. J. Obstet. Gynecol.* 118: 337, 1974.
216. Sassin J. F. Frantz A. G., Weitzman E. D. Kapen S.: "Human prolactin:24-hour pattern with increased release during sleep". *Science* 177: 1205, 1972.
217. Quinigley M. E., Ropert J. F., Yen S. S. C.: "Acute prolactin release triggered by feeding" *J. Clin Endocrinol. Metab.* 52: 1043, 1981.
218. Jaffe R. B., Yuen G. H., Keye W. R. Jr., Midgley A. R. Jr: "Physiologic and pathologic profiles of circulating human prolactin" *Am. J. Obstet. Gynecol.* 117: 757, 1973.
219. Tyson J. E., Hwang P., Guyda H., Friesen H. G.: "Studies of prolactin secretion in human pregnancy". *Am J. Obstet. Gynecol.* 113: 14, 1972.
220. Franks S. Murray M. A. F., Jequier A.M., Steele S. J. ,Nabarro J.D.N., Jacobs H. S.: "Incidence and significance of hyperprolactinemia in women with amenorrhea" *Clin. Endocrinol.* 4: 597, 1975.
221. Zarate A., Canales E. S., Villalobos H., Soria J., Jscobs L.S, Kastin A. J., Schally A. V.: "Pituitary hormonal reserve in patients presenting hyperprolactinemia, intrasellar masses, and amenorrhea without galactorrhea". *J. Clin. Endocrinol Metab.* 40: 1034, 1975.
222. Archer D.F., Nankin H.R., Gahos P.F, Maroon J., Nosetz S., Wadhwa S.R., Josimovich J.B .:"Serum prolactin in patients with inappropriate lactation" *Am J. Obstet Gynecol* 119: 466, 1974.
223. Boyar R.M., Kapen S., Finkelstein J.W., Perlow M., Sassin J; F., Fukushima D. K., Weitzman E. D., Hellman L.: "Hypothalamic-pituitary function in diverse hperprolactinemic states". *J. Clin. Invest.* 53: I 588, 1974.
224. Jacobs L.S., Snyder P.J. Utiger R.D., Daughaday W.H.: 'Prolactin responde to thyrotropin-releasing hormone in normal subjects". *J. Clin Endocrinol Metab.* 36: 1069, 1973.
225. Kleinberg D.L., Noel J.L., Frantz A.G.: "Chlorpromazine stimuhation and L-dopa suppression of plasma prolactin in man" *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 33: 873, 1976.
226. Judd S. J., Lazarus L., Smythe G.: "Prolactin secretion by metocohopramide in man". *J. Clin Endocrinol. Metab.* 43: 313, 1976.

227. Lachelin G.C.L., Leblanc L.H., Yen S.S.C.: "The inhibitory effect of dopamine agonists on LH release in omen". *J. Clin Endocrinol Metab.* 44: 728, 1977.
228. Friesen H., Goyda H., Hwang P., Tyson J.E., Barbeau A.: "Functional evaluation of prolactin secretion: A guide to therapy". *J. Clin Invest.* 51: 706, 1972.
229. Tolis G, Goldstein M., Friesen H.G. : "Fonctional evaluation of prolactin secretion in patients with hypothalamic-pituitary disorder". *J. Clin Invest* 52: 783. 1973.
230. Van Wyk J.JJ: "Growth hormone levels during sleep in normal and growth hormone deficient children". *Pediatrics* 48: 946, 1971.
231. Buckler J.M.H: "Exercise as a screening test for growth hormone release" *Acta Endocrinol.* 69: 219, 1972.
232. Keenan B.S., Killmer L.B. Jr., Sode J.: "Growth hormone response to exercise: A test of pituitary function in children". *Pediatrics* 50: 760, 1972.
233. Greenwood F.C., Landon J., Stamp J.C.B.: "The plasma sugar, free fatty acid, cortisol and growth hormone response to insulin. I. In control subjects" *J. Clin. Invest* 45: 429, 1966.
234. Penny R., Blizzard R.M, Davis W.T.: "Sequential arginine and insulin tolerance tests on the same day" *J. Clin Endocrinol. Metab.* 29: 1499, 1969.
235. Kansal P.C., Buse J., Talbert O.R., Buse M.G.: "The effect of L-dopa on plasma growth hormone, insulin, and thyroxine". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 34: 99, 1972.
236. Goillemin R., Brazeau P., Bohlen P., Esch F., Ling N., Wehrenberg W.B.: "Growth hormone-releasing factor from a human pancreatic tumor that caused acromegaly" *Science* 218: 585, 1982.
237. Thorner M.O., Spiess J., Vance M.L., Rogol A.D, Kaiser D.L., Webster J.D., Rivier J., Borges J.L., Bloom S.R., Cronin M.J., Evans W.S, MacLeod R.M., Vale W.: "Human pancreatic growth hormone-releasing factor selectively stimulates growth-hormone secretion in man" *Lancet* 1: 24, 1983.
238. Bohten P., Brazeau P., Bloch B., Ling N., Gaillard R., Guillemin R.: "Human hypothalamic growth hormone-releasing factor (GRE): Evidence for two forms identical to tumor derived GRF-44-NH2 and GRE-40". *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 114: 930, 1983.

239. Rosenthal SM., Sebriock E.A, Kaplan SL., Guillemin R., Urumbach MM.: "Synthetic human pan-creas growth hormone releasing factor (hpGRF 1-44 NH₂) stimulates growth secretions in normal man". *J Clin Endocrinol. Metab.* 57: 677, 1983.
240. Vance ML., Borges J.L., Kaiser D.L., Evans W.S., Furlanetto R., Thominet J.L., Frobman A., Rogol A.D., MacLeod R.M., Bloom S., Rivier J., Vale W., Thorner M.O.: "Human pancreatic tumor growth hormone-releasing factor: Dose-response relationships in normal man". *J. Clin. Endocrinol. Metab* 58: 838, 1984.
241. Takano K., Hizuka N., Shizume K., Asakawa K., Miyakawa M., Hirose N., Shinbasaki T., Ling N.C.: "Plasma growth hormone (GH) response to GH-releasing factor in normal children with short stature and patients with pituitary dwarfism". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 58: 236. 1984.
242. Laron Z., Pertzelan A., Karp M.: "Pituitary dwarfism with high serum levels of growth hormone". *Isr. J. Med. Sci.* 4: 883, 1968.
243. Daughaday W.H., Laron Z., Pertzelan A., Heins J. H.: "Defective sulfation factor generation: A possible etiological link in dwarfism" *Trans. Assoc. Am. Physicians* 82: 129, 1969.
244. Underwood J.E., Azumi K., Voina S.J., Hollander J.B.: "Acromegaly and other disorder of growth hormone secretion". *Ann. Intern. Med.* 66: 760. 1967.
245. Daughaday W.H.: "The diagnosis of hypersomatotropism in man". *Med. Clin. North Am.* 52: 371, 1968.
246. Earll J. M., Sparks L.L., Forsham P.H.: "Glucose suppression of serum growth hormone in the diagnosis of acromegaly". *J.A.M.A.* 201: 628, 1967.
247. Beck P., Parker M.L., Daughaday W.H.: "Paradoxical hypersecretion of growth hormone in response to glucose". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 26: 643, 1966.
248. Mims R.B., Bethune J.E.: "Acromegaly with normal fasting growth hormone concentrations but abnormal growth hormone regulation". *Ann. Intern. Med.* 81: 781, 1974.
249. Goodman H.G., Grumbach M.M., Kaplan S.L.: "Growth and growth hormone. II. A comparison of isolated growth hormone deficiency and multiple pituitary-hormone deficiencies in 35 patients with idiopathic hypopituitary dwarfism". *N. Engl. J. Med.* 278: 57, 1968.

250. Glick S.M., Roth J., Yalow R.S., Berson S.A.: "Immunoassay of human growth hormone in plasma". *Nature* 199: 784, 1963.
251. Roth J., Glick S.M., Yalow R.S., Berson S.A.: "Gypoglycemia: A potent stimulus to secretion of growth hormone". *Science* 140: 987, 1963.
252. Eddy R.L., Gilliano P.F., Ibarra J.D.Jr., McMurry J.F.Jr., Thompson J.Q.: "Human growth hormone release: Comparison of provocative test procedures". *Am. J. Med.* 56: 179, 1974.
253. Frasier S.D.: "A review of growth hormone stimulation test in childrens". *Pediatrics* 53: 6, 1974.
254. Merimee T.J., Rabin D.: "A survey of growth hormone secretion and action". *Metabolism* 22: 1235, 1973.
255. MacGillivray M.H., Aceto T. Jr., Frohman L.A.: "Plasma growth hormone responses and growth retardation of hypothyroidism". *Am. J. Dis. Child.* 115: 273, 1968.
256. Burgess J.A., Smith B.R., Merimee T.J.: "Growth hormone in thyrotoxicosis: effect of insulin-induced hypoglycemia". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 26: 1257, 1966.
257. Parker D.C., Sassin J.F., Mace W.J., Gotlin R.W., Rossman L.G.: "Human growth hormone release during sleep: Electroencephalographic correlation". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 29: 871, 1969.
258. Mace J.W., Gotlin R.W., Sassin J.F., Parker D.C., Rossman L.G.: "Usefulness of post-sleep human growth hormone release as a test of physiologic growth hormone secretion". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 31: 225, 1970.
259. Rose L.I., Williams G.H., Jagger P.I., Lauler D.P.: "The 48-hour adrenocorticotrophin infusion test for adrenocortical insufficiency". *Ann. Int. Med.* 73: 49, 1970.
260. Jacobs H.S., Nabarro J.D.N.: "Test of hypothalamic-pituitary-adrenal function in man". *Q. J. Med.* 38: 475, 1969.
261. Landon J., Greenwood F.C., Stamp T.C.B., Wynn V.: "The plasma sugar, free fatty acid, cortisol, and growth hormone response to insulin and the comparison of this procedure with other tests of pituitary and adrenal function. II. In patients with hypothalamic or pituitary dysfunction or anorexia nervosa". *J. Clin. Invest.* 43: 437, 1966.

262. Landon J., Wynn V., James V.H.T.: "The adrenocortical response to insulin-induced hypoglycemia". *J. Endocrinol.* 27: 183, 1963.
263. Bus O., Binder C., Petersen F.: "Metopirone dosage in pituitary function test" *Lancet* 1: 1040, 1962.
264. Estep H.L., Island D.P., Ney R.L., Liddle G.W.: "Pituitary-adrenal dynamics during surgical stress". *J. Clin Endocrinol. Metab.* 23: 49, 1963.
265. Danowsky T.S., Bonnessi J.V., Sabeh G., Sutton R.D., Webster M.W., Sarver M.E.: "Probabilities of pituitary-adrenal responsiveness after steroid therapy" *Ann. Intern. Med* 61: 11, 1964.
266. Liddle G.W., Island O., Meador C.K.: "Normal and abnormal regulation of corticotropin secretion in man". *Rec. Prog. Horm. Res.* 18: 125, 1962.
267. Browner A.C., Sprunt J.G.: "Metopirone in the assesment of pituitary-adrenal function" *Lancet* 1: 773, 1962.
268. Oldstone M.B.A.: "Disturbance of pituitary-adrenal interrelationships in benign intracranial hypertension (pseudotumor cerebri)". *J. Clin Endocrinol. Metab.* 26: 1366, 1966.
269. Mestman J.H., Nelson D.H.: "Inhibition by estrogen administration of adrenal-pituitary response to methyrapone". *J. Clin Invest.* 42: 1529, 1963.
270. Meikle A.W., Jubiz W., Matsukura S., West C.D., Tyler F.H.: "Effect of diphenylhydantoin on the metabolism of metyrapone and release of ACTH in man". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 29: 1553, 1969.
271. Allen J.P., Kendall J.W., McGilvra R., Lamorena T.R., Castro A.: "Adrenocorticotrophic and growth hormone secretion: Studies during ptseumoencephalography". *Arch. Neurol.* 31: 325, 1974.
272. Jayle M.F.: "The investigation of gonadal endocrine function" In Philipp E.E., Barnes J., and Newton M. (eds), *Scientific Foundations of Obstetrics and Gynecology.* F.A. Davis Co., Philadelphia, 1970, p. 549.
273. Ettinger B., von Werder K., Thenaers G.C., Forshman P.H.: "Plasma testosterone stimulation-suppression dynamics in hirsute women". *Am. J. Med.* 51: 170, 1971.
274. Givens J.R.: "Hirsutism and hyperandrogenism" In Stollerman G.H. (ed),

- "Advances in Internal Medicine", vol., 21, Year Book Medical Publishers, Chicago, 1979, p. 221.
275. Fleetwood R., Leigh J., Hall R., Smith P.A.: "Evidence for an underlying adrenocortical abnormality in hirsute women". *Clin. Endocrinol.* 3: 457, 1974.
276. Ettinger B., Goldfield E.B., Burrell K.C., Von Werder K., Forsham P.H.: "Plasma testosterone stimulation-suppression dynamics in hirsute women: Correlation with long-term therapy". *Am. J. Med.* 54: 195, 1973.
277. Perloff W.H., Jacobsohn G.: "Effect of human chorionic gonadotropin (hCG) on urinary 17-ketosteroids in a patient with Stein-Leventhal syndrome before and after oophorectomy". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 23: 1177, 1963.
278. Pauerstein C.J., Solomon D.: "LH and adrenal androgenesis" *Obstet. Gynecol* 28: 692, 1966.
279. Givens J.R., Andersen R.N., Wisner W.L., Coleman S.A., Fish S.A.: "A gonadotropin-responsive adrenocortical adenoma". *J. Clin Endocrinol. Metab.* 38: 126, 1974.
280. Kiaschner M.A., Zucker I.R., Jespersen D.: "Idiopathic hirsutism-an ovarian abnormality" *N. Engl. J. Med* 294: 637. 1976.
281. Horton R., Hawks D., Lobo R.: "3 β Androstenediol glucuronide in plasma: A marker of androgen action in idiopathic hirsutism". *J. Clin. Invest.* 69: 1203, 1982.
282. Yalow R.S., Berson S.A.: "Radioimmunoassay of human plasma ACTH". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 24: 1219, 1964.
283. Besser G.M.: "ACTH and MSH assays and their clinical application". *Clin Endocrinol.* 2: 175, 1973.
284. Landon J., Greenwood F.C.: "Homologous radioimmunoassay for plasma levels of corticotrophin in man" *Lancet* 1: 273, 1968.
285. Mason A.M.S., Ratcliffe J.G., Buckle R.M., Mason A.S.: "ACTH secretion by bronchial carcinoid tumors". *Clin. Endocrinol.* 1: 3, 1972.
286. Silverman S.R., Marnell R.T., Sholiton L.J., Werk E.E. Jr.: "Failure of dexamethasone suppression test to indicate bilateral adrenocortical hyperplasia in Cushing's syndrome". *J. Clin Endocrinol. Metab.* 23: 167, 1963.

287. Cassidy C.E., Rosenfeld P.S., Bokart M.A.: "Suppression of activity of the adrenal cortex by dexamethasone in Cushing's syndrome". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 26: 1181, 1966.
288. Grumbach M.M., Bongiovanni A.M., Eberlein W.R., van Wyk J.J., Wilkins L.: "Cushing's syndrome with bilateral adrenal hyperplasia: A study of the plasma 17-hydroxycorticosteroids and the response to ACTH". *Bull Johns Hopkins Hosp.* 96: 116, 1955.
289. Christy N.P., Longson D., Jailer J.W.: "Studies in Cushing's syndrome. I. Observations on the response of plasma 17-hydroxycorticosteroid levels to corticotropin". *Am. J. Med.* 23: 910, 1957.
290. Nichols J., Nugent C.A., Tyler F.H.: "Steroid laboratory tests in the diagnosis of Cushing's syndrome" *Am. J. Med.* 45: 116, 1968.
291. Liddle G.W., Estep H.L., Kendall J.W. Jr., Williams W.C. Jr., Townes A.W.: "Clinical application of a new test of pituitary reserve". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 19: 875, 1959.
292. Vale W., Spiess J., Rivier J.: "Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and beta-endorphin" *Science* 213: 1394, 1981.
293. Orth D.N., Jackson R.V., DeCherney G.S., DeBold C.R., Alexander A.N., Island D.P., Rivier J., Rivier C., Spiess J., Vale W.: "Effect of synthetic ovine corticotropin-releasing factor". *J. Clin. Invest.* 71: 587, 1983.
294. Nahara M., Shibasaki T., Shizume K., Kiyosawa Y., Odagiri E., Suda T., Yamaguchi H., Tsushima T., Demura H., Maeda T., Wakayabashi I., Ling N.: "Corticotropin-releasing factor test in normal subjects and patients with hypothalamic-pituitary adrenal disorders". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 57: 963, 1983.
295. Chrousos G.P., Schulte H.M., Oldfield E.H., Gold P.W., Cutler G.B. Jr., Loriaux D.L.: "The aid in the evaluation of patients with Cushing's syndrome". *N. Engl. J. Med.* 310: 622, 1984.
296. Schurmeyer T.H., Avgerinos P.C., Gold P.W., Gallucci W.T., Tomai T.P., Cutler G.B. Jr., Loriaux D.L., Chrousos G.P.: "Human corticotropin-releasing factor in man: Pharmacokinetic properties and dose-response of plasma adrenocorticotropin and cortisol secretion". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 59: 1103, 1984.
297. Hellman L., Bradlow H.L., Zumolf B., Gallagher T.F.: "The influence of thyroid

- hormone on hydrocortisone production and metabolism". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 21: 1231, 1961.
298. Gallagher T.F., Hellman L., Finkelstein J., Yoshida K., Weitzman E.D., Roffwarg H.D., Fukushima D.K.: "Hyperthyroidism and cortisol secretion in man". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 34: 919, 1972.
299. Mattingly D., Tyler C.: "Simple screening test for Cushing's syndrome". *Br. Med. J.* 4: 394, 1967.
300. Christy N.P.: "Cushing's syndrome: The natural disease. In Christy, n.p. (eds.), *The Human Adrenal Cortex*" Harper 6 Row, New York, 1971. p 359.
301. Migeon C.J., Green O.C., Eckert J.P.: "Study of adrenocortical function in obesity". *Metabolism* 12: 718, 1963.
302. Borushek S., Gold J.J.: "Commonly used medications that interfere with routine endocrine laboratory procedures". *Clin. Chem.* 10: 41, 1964.
303. Sawin C.T.: "Measurement of plasma cortisol in the diagnosis of Cushing's syndrome" *Ann. Intern. Med.* 68: 624, 1968.
304. Hellman L., Nakada F., Curti J., Weitzman E.D., Kream J., Roffwarg H., Hellman S., Fukushima D.K., Gallagher T.F.: "Cortisol is secreted episodically by normal man". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 30: 411, 1970.
305. Hellman L., Weitzman E.D., Roffwarg H., Fukushima D.K., Yoshida K., Gallagher T.F.: "Cortisol is secreted episodically in Cushing's syndrome". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 30: 686, 1970.
306. Tucci J.R., Jagger P.I., Lauder D.P., Thorn G.W.: "Rapid dexamethasone suppression test for Cushing's syndrome". *JAMA.* 199: 379, 1967.
307. Melby J.C.: "Assessment of adrenocortical function". *N. Engl. J. Med.* 285: 735, 1971.
308. Liddle G.W.: "Test of pituitary adrenal suppressibility in the diagnosis of Cushing's syndrome". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 20: 1539, 1960.
309. Ney R.L., Shimizu N., Nicholson W.E., Island D.P., Liddle G.W.: "Correlation of plasma ACTH concentrations with adrenocortical response in normal human subjects, surgical patients and patients with Cushing's syndrome". *J. Clin. Invest.* 42: 1669, 1963.

310. Lunenfeld B., Insler Y.: "Classification of amenorrhea states and their treatment by ovulation induction". *Clin. Endocrinol.* 3: 223, 1974.
311. Jacobs H.S., Hull M.G.R., Murray M.A.F., Franks S.: "Therapy-orientated diagnosis of secondary amenorrhea" *Horm. Res.* 6: 268, 1975.
312. Nillius S.J., Wide L.: "The LH releasing hormone test in 31 women with secondary amenorrhea" *J. Obstet. Gynecol. Br. Commonw.* 79: 874, 1972.
313. Merimee T.J., Lillicrap D.A., Rabinowitz D.: "Effect of argine on serum levels of human growth hormone. *Lancet* 2: 668, 1965.
314. Merimee T.J., Rabonowitz D., Fineberg S.E.: "Argine-initiated release of human growth hormone: Factors modifying the response in normal man". *N. Engl. J. Med.* 280: 1434, 1969.
315. Parker M.L., Hammond J.M., Daughaday W.H.: "The arginine provocative test: An aid in the diagnosis of hyposomatotropism". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 27: 1129, 1967.

Indice

Editoriale	pag 3
Introduzione.....»	5
Definizione e Classificazione.....»	9
Amenorree da cause anatomiche	11
Amenorree da cause ovariche.....»	14
Amenorree da cause ipotalamo-ipofisaria	17
Studio Endocrino della paziente amenorroica	25
Valutazione funzionale dell'unità ipotalamo-ipofisaria	25
Valutazione funzionale dell'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio	25
Valutazione funzionale dell'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide	28
Valutazione della secrezione di prolattina	29
Valutazione della secrezione dell'ormone della crescita.....»	30
Gli effetti degli ormoni steroidei.....»	34
a) i genitali esterni.....»	34
b) il muco cervicale.....»	34
Il test al progesterone	35
La determinazione del grado di maturazione ossea	36
La valutazione della densità ossea.....»	37

Valutazione di alcuni possibili motivi etiopatogenetici	
dell'amenorrea	38
a) l'esame radiologico della sella turcica.....	38
b) la determinazione di anomalie genetiche.....	38
Approccio clinico alla paziente amenorrea	38
I test dinamici.....	41
Test al clomifene citrato.....	41
Test con GnRH	41
Test con TRH	42
Test con GRF	43
Test con CRF	43
Test con L-dopa.....	44
Test di tolleranza all'insulina	45
Test di tolleranza all'arginina	46
Test di soppressione rapido con desametazone.....	47
Test di soppressione al desametazone.....	47
Test rapido con ACTH	48
Infusione di ACTH per 48 ore.....	48
Test al metyrapone	49
Bibliografia	51
Indice.....	78
Volumi pubblicati nella collana Caleidoscopio.....	81

Caleidoscopio

1. Rasso S.: *Principi generali di endocrinologia*. Gennaio '83
2. Rasso S.: *L'ipotalamo endocrino*. Giugno '83
3. Rasso S.: *L'ipofisi*. Dicembre '83
4. Alagna., Masala A.: *La prolattina*. Aprile '84
5. Rasso S.: *Il pancreas endocrino*. Giugno '84
6. Fiorini I., Nardini A.: *Citomegalovirus, Herpes virus, Rubella virus (in gravidanza)*. Luglio '84.
7. Rasso S.: *L'obesità*. Settembre '84
8. Franceschetti F., Ferraretti A.P, Bolelli G.F., Bulletti C.: *Aspetti morfofunzionali dell'ovaio*. Novembre '84.
9. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (1)*. Dicembre '84.
10. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte prima*. Gennaio '85.
11. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte seconda*. Febbraio '85.
12. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte prima*. Aprile '85.
13. Nacamulli D, Girelli M.E, Zanatta G.P, Busnardo B.: *Il TSH*. Giugno '85.
14. Facchinetti F. e Petraglia F.: *La -endorfina plasmatica e liquorale*. Agosto '85.
15. Baccini C.: *Le droghe d'abuso (1)*. Ottobre '85.
16. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte seconda*. Dicembre '85.
17. Nuti R.: *Fisiologia della Vitamina D: Trattamento dell'osteoporosi post-menopausale*. Febbraio '86.
18. Cavallaro E.: *Ipnosi: una introduzione psicofisiologica*. Marzo '86.
19. Fanetti G.: *AIDS: trasfusione di sangue emoderivati ed emocomponenti*. Maggio '86.
20. Fiorini I., Nardini A.: *Toxoplasmosi, immunologia e clinica*. Luglio '86.
21. Limone P.: *Il feocromocitoma*. Settembre '86.
22. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Flamigni C.: *Il Testicolo. Aspetti morfo-funzionali e clinici*. Novembre '86.
23. Bolcato A.: *Allergia*. Gennaio '87.
24. Kubasik N.P.: *Il dosaggio enzimologico e fluoroimmunologico*. Febbraio '87.
25. Carani C.: *Patologie sessuali endocrino-metaboliche*. Marzo '87.
26. Sanna M., Carcassi R., Rasso S.: *Le banche dati in medicina*. Maggio '87.
27. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Jasonni V.M., Flamigni C.: *L'amenorrea*. Giugno '87.

Caleidoscopio
Rivista mensile di Medicina
anno 5, numero 27

Direttore Responsabile

Sergio Rassu
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari
Tel.-Fax 079 270464
Tel. mobile 0338 2202502
E-mail: rassu@ssnet.it

EDITORE

Consulenti di Redazione

Giancarlo Mazzocchi ed
Angelo Maggio

Segretaria di Direzione

Carmela Tiberti

Servizio Abbonamenti

Fina Grandeppieno
Flavio Damarciasi

Responsabile Commerciale

Alessandra Pater

Via Rio Torbido, 40
16165 Genova (Italy)
Tel. (010) 83401 Numero Verde 800 801005 (senza prefisso);
Telefax (010) 803498- 809070.

Internet URL:<http://medicalsistemas.editoria.com> e <http://www.medicalsistemas.it>
La Medical Systems pubblica anche le seguenti riviste: Journal of Clinical Ligand Assay,
Guida Pratica Immulite[®], Caleidoscopio, Kaleidoscope, Caleidoscopio letterario, Pandora,
Journal of Preventive Medicine and Hygiene, Tribuna Biologica e Medica.

Stampa

Tipolitografia ATA
16143 Genova - Via G. Torti, 32 c.r.
Tel. (010) 513120 - Fax (010) 503320

Registrazione Tribunale di Sassari n. 189 del 6/11/1984
Iscrizione al Registro Nazionale della Stampa n° 2661 del 2 Settembre 1989

Finito di stampare: Giugno 1987
Sped. in Abb. Post. 45%

Pubblicazione protetta a norma di legge dall'Ufficio proprietà letteraria, artistica e scientifica della Presidenza del Consiglio dei Ministri, dedicata all'aggiornamento professionale continuo e riservata ai medici.

Caleidoscopio viene anche letto e rilanciato da:
"L'ECO DELLA STAMPA"
Via Compagnoni, 28 - Milano