

Revista de Endocrinología y Nutrición

Volumen **13**
Volume

Suplemento **1**
Supplement




Julio-Septiembre **2005**
July-September

Artículo:

Pruebas bioquímicas en neuroendocrinología

Derechos reservados, Copyright © 2005:
Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología, AC

**Otras secciones de
este sitio:**

-  **Índice de este número**
-  **Más revistas**
-  **Búsqueda**

***Others sections in
this web site:***

-  ***Contents of this number***
-  ***More journals***
-  ***Search***



medigraphic.com



Evaluación del paciente con problemas endocrinológicos

Pruebas bioquímicas en neuroendocrinología

Ana Laura Espinosa de los Monteros Sánchez*

* Médico adscrito al Servicio de Endocrinología. Servicio de Endocrinología. Hospital de Especialidades, CMN Siglo XXI, IMSS.

DIAGNÓSTICO EN EL SÍNDROME DE CUSHING

El diagnóstico del síndrome de Cushing constituye uno de los retos más grandes en endocrinología. Si bien las manifestaciones clínicas son obvias en muchos de los casos, en otros pueden ser sólo sutiles (Cushing leve).

De acuerdo a un estudio reciente se sospecha que cerca del 2 al 3% de los pacientes con diabetes de difícil control y obesidad pueden tener síndrome de Cushing no reconocido, es decir hipercortisolismo "subclínico"¹ de ahí que se requiera de estudios altamente sensibles que permitan una adecuada discriminación bioquímica entre los pacientes con verdadero hipercortisolismo y aquellos con síndrome metabólico y fenotipo cushingoide.

El proceso de identificación o localización de la causa del síndrome de Cushing una vez que se ha confirmado el hipercortisolismo requiere de una combinación de pruebas dinámicas e imágenes radiológicas que permitan diferenciar su origen: hipofisiario, ectópico o suprarrenal.

Desafortunadamente no existen pruebas que por sí solas puedan ser consideradas como la mejor en términos de efectividad y disponibilidad para el escrutinio y la localización del síndrome de Cushing y en ocasiones por lo tanto será necesaria más de una. En el intento de mejorar su eficacia diagnóstica se han propuesto diferentes formas de realizarlas y de interpretarlas. En términos generales se acepta que la mejor prueba de escrutinio será aquella que estando al alcance de cada centro hospitalario, ofrezca la mayor sensibilidad, mientras que para la localización se requiere de una prueba que tenga alta especificidad.

PRUEBAS DE ESCRUTINIO

1) Cortisol en orina de 24 horas (UFC): Se considera que esta prueba es la mejor forma de medir la producción diaria de cortisol. Se recomienda realizarla como prueba inicial. Algunos han reportado que tiene una sensibilidad del 95 al 100%,² aunque en otros estudios ésta ha sido del 45 al 71%, lo que traduce que algunos pacientes con Cushing leve puedan tener una o más mediciones normales de UFC²⁻⁴ de ahí que se recomiende hacer esta medición en 2 a 4 colecciones de orina. El UFC puede elevarse en algunas condiciones diferentes al Cushing, como son: pseudocushing, obesidad, o la ingesta de carbamazepina o fenofibrato.

2) Supresión con dosis baja de dexametasona (DXM): Ya sea mediante la administración de DXM en una sola dosis nocturna (para valorar la supresión del cortisol sérico a la mañana siguiente) o en dos días seguidos (para valorar la supresión en cortisol libre urinario), se ha visto que la sensibilidad de esta prueba es baja^{5,6} por lo que no se recomienda como prueba inicial. En los últimos años se ha observado que con la utilización de inmunoensayos más sensibles para la medición de cortisol sérico, los pacientes con Cushing "leve" pueden mostrar después de la administración de 1 mg de DXM niveles de cortisol sérico por debajo de 5 µg/dL (nivel de supresión tradicionalmente considerado como normal), pero no por abajo de 1.8 µg/dL, por lo que actualmente se sugiere la aplicación de este criterio como límite de supresión normal.⁷

3) Ritmo de cortisol: Estudios recientes han mostrado que la medición de cortisol en suero y en saliva duran-

te la media noche (00:00 h) es altamente sensible.⁸ De acuerdo a algunos ésta es la prueba más sensible para el diagnóstico de hipercortisolismo.⁸⁻¹⁰ Newell-Price encontró que tomando como corte un nivel de cortisol sérico de 1.8 µg/dL la prueba tiene un 100% de sensibilidad.⁹ Por otro lado, Gorges encontró en su grupo de estudio que un nivel por arriba de 5.2 µg/dL diferenciaba a los pacientes con hipercortisolismo de los que no lo tenían (sensibilidad del 100%).⁸

El inconveniente de esta prueba son las condiciones en las que tiene que ser realizada ya que el paciente debe estar hospitalizado para que la muestra sea tomada a la medianoche y durante el sueño (libre de estrés). La medición del cortisol salival por el contrario ofrece una gran ventaja en su toma ya que se evita el estrés por venopunción.

PSEUDO-CUSHING

En el estudio del paciente con sospecha de síndrome de Cushing es importante identificar aquellos que cuentan con el antecedente de alcoholismo activo y depresión endógena, debido a que puede existir un estado conocido como pseudo-Cushing que se caracteriza por un cuadro clínico semejante al del Cushing, así como evidencia de hipercortisolismo bioquímico, lo cual se debe a una alteración en la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal sin que existan lesiones autónomas como en el Cushing verdadero. Debido a que en los estados de pseudo-Cushing se puede encontrar elevación del UFC y ausencia de supresión de cortisol con dosis bajas de dexametasona, se han propuesto algunas pruebas con las cuales puede diferenciarse del síndrome de Cushing verdadero:

- Prueba combinada de DXM/CRH:
Cortisol sérico post DXM/CRH > 1.4 µg/dL = Cushing¹¹
- Ritmo de cortisol:
Cortisol medido a las 00:00 h > 7.5 µg/dL = Cushing¹²
- Prueba con DDAVP (desmopresina):
ACTH post DDAVP > 6 pg/mL = Cushing¹³
- Prueba con loperamida
- Prueba de hipoglucemia inducida con insulina

PRUEBAS DE LOCALIZACIÓN

Una vez confirmada la presencia de hipercortisolismo, deberá buscarse el origen de la enfermedad: 1) Tumor hipofisiario, 2) Tumor ectópico, 3) Tumor o hiperplasia suprarrenal. Los dos primeros en su fisiopatología son dependientes de ACTH, mientras que el último no, por lo que en forma inicial deberá medirse el nivel de ACTH.

MEDICIÓN DE ACTH

Un nivel suprimido de ACTH (< 5 pg/mL) identificará las causas suprarrenales primarias, sin necesidad de ninguna otra prueba bioquímica y debiendo realizar hasta este momento estudio de imagen (TAC de suprarrenales). Por otro lado, un nivel normal o elevado de ACTH (> 15 pg/mL) será característico de un tumor productor de ACTH. Un nivel intermedio entre 5 y 15 pg/mL generalmente corresponde a Cushing ACTH dependiente.¹⁴

La medición de ACTH permite identificar a los pacientes con Cushing ACTH dependiente, pero no puede distinguir entre Cushing ectópico y Cushing hipofisiario ya que en ambos estados existe gran sobreposición en el nivel de esta hormona, de ahí que se requiera de pruebas dinámicas para su diferenciación.

PRUEBAS PARA DIFERENCIAR CUSHING DEPENDIENTE DE ACTH: ORIGEN HIPOFISIARIO VS ECTÓPICO

Estas pruebas se dividen en tres tipos:

- 1) Pruebas de supresión con dosis alta de dexametasona
- 2) Pruebas de estimulación: con CRH o con vasopresina o con desmopresina
- 3) Muestreo de seno petroso inferior (MSPI)

Por lo general la realización de la prueba de supresión con dosis alta de dexametasona o bien la prueba de estimulación con CRH serán suficientes para orientar el origen del tumor, sin embargo pueden obtenerse resultados falsos positivos hasta en el 31% de los casos durante la prueba de supresión y del 9% durante la prueba de estimulación;¹⁵ por otro lado se sabe también de la presencia de falsos negativos hasta en el 10% de los casos para ambas pruebas.¹⁶ Debido a lo anterior, cuando exista discordancia entre el resultado bioquímico y el estudio de imagen (RMN o TAC) se recomienda la realización de MSP.

PRUEBA DE SUPRESIÓN CON DOSIS ALTA DE DEXAMETASONA

Este tipo de prueba se empezó a realizar en los años 40. Es la más frecuentemente utilizada debido a que su costo no es tan elevado comparada con la prueba de estimulación y el MSPI, así como por su accesibilidad y poca invasividad. Su fundamento es la capacidad de la dexametasona (administrada en dosis alta) de actuar sobre los receptores glucocorticoideos en el tumor hipofisiario suprimiendo la producción de ACTH y por lo tanto de cortisol, mientras que en los casos de Cushing ectópico debido a

la "ausencia" de estos receptores, no se presentará dicha supresión.

Tradicionalmente esta prueba se realiza mediante la administración de DXM en dos días seguidos evaluando su efecto sobre el cortisol libre urinario (UFC) y utilizando un criterio de supresión del 50%, sin embargo con la intención de mejorar su eficacia diagnóstica, son varias las formas en las que se ha propuesto su realización e interpretación:

- 8 mg de DXM administrada en dos días seguidos, efecto medido sobre UFC con criterio de supresión del 90% (100% especificidad, 79% sensibilidad)¹⁷
- 8 mg de DXM administrada en dosis única por la noche, efecto medido sobre cortisol sérico con criterio de supresión del 50% (57% especificidad, 88% sensibilidad)¹⁸
- 8 mg de DXM administrada en dosis única por la noche, efecto medido sobre cortisol sérico con criterio de supresión del 68% (100% especificidad, 71% sensibilidad)¹⁹
- Infusión continua de DXM (1 mg/h) durante 7 horas (62% especificidad, 94% sensibilidad)²⁰

Con base en los datos anteriores y a la experiencia de nuestro Centro, así como a la comodidad para su realización, nosotros sugerimos realizar la prueba con 8 mg de DXM administrada en dosis única por la noche, efecto medido sobre cortisol sérico con criterio de supresión del 68%¹⁹

PRUEBA DE ESTIMULACIÓN

Esta prueba empezó a realizarse en los años 80. Su fundamento es la capacidad de estimular a los receptores para CRH localizados a nivel hipofisario mediante la administración de esta hormona cuando se trata de enfermedad de Cushing, lo cual llevará a una elevación en el nivel de cortisol y de ACTH. Por otro lado, en el caso de los tumores ectópicos, se espera ausencia en la elevación de ACTH y de cortisol dada la "falta" de receptores para CRH en tejido diferente al hipofisario.

El criterio de interpretación de esta prueba, establecido por los institutos nacionales de salud en EUA, los cuales cuentan con una de las series más grandes de pacientes con síndrome de Cushing, es el de 35% de elevación en ACTH y 20% en cortisol después de administrar 1 µg/K de CRH bovina (CRHb) para el diagnóstico de enfermedad de Cushing, y ausencia de dicha estimulación para el diagnóstico de Cushing ectópico.^{14,21}

Las limitaciones de esta prueba, son el costo elevado de la CRHb, además de variaciones en los criterios de interpretación propuestos por diferentes grupos, además de la sospecha de que la respuesta pueda ser diferente

al administrar CRH bovina vs CRH humana. Un estudio previo sugiere que la combinación de la prueba de estimulación con CRH y la de supresión con dosis alta de dexametasona pueda mejorar la certeza diagnóstica.

La desmopresina es capaz de promover la liberación de ACTH y cortisol en la enfermedad de Cushing al estimular selectivamente los receptores de vasopresina V2 y V3, sin embargo su utilidad para diferenciar Cushing dependiente de ACTH es limitada debido a la sobreposición en los niveles de cortisol y ACTH, de ahí que no se recomienda.¹⁴

MUESTREO DEL SENO PETROSO INFERIOR (MSPI)

Este estudio empezó a realizarse en los años 80. Actualmente se considera que es la mejor prueba para la diferenciación de Cushing ACTH dependiente.^{14,16} Mediante la cateterización de ambos senos petrosos (derecho e izquierdo) y de una vena periférica se obtienen muestras simultáneas para la medición de ACTH, antes y después de la administración de CRH para de esta forma poder establecer comparaciones del nivel de ACTH central vs periférica. Un gradiente de ACTH central: periferia mayor de 3 (post CRH) será indicativo de enfermedad de Cushing.

El MSPI ofrece una sensibilidad y especificidad diagnóstica mayor que la probabilidad pre-prueba del 85 a 90% para enfermedad de Cushing.^{14,16} Sin embargo, la validez de este estudio depende de la adecuada canulación de los senos petrosos (lo cual no es posible en el caso de senos petrosos anómalos o hipoplásicos). La combinación de reportes de varios centros, que incluye 726 pacientes con enfermedad de Cushing y 112 con Cushing ectópico, dan al MSPI una sensibilidad y especificidad del 94%.¹⁴ Aunque por sí solo el MSPI se considera la mejor prueba para el diagnóstico diferencial del síndrome de Cushing dependiente de ACTH, su uso puede verse influenciado en la práctica real por la necesidad de radiólogos expertos, la disponibilidad de CRH, su costo y el riesgo (aunque bajo) por ser un procedimiento invasivo, de ahí que como se mencionó anteriormente sólo se recomienda en aquellos casos de discordancia entre el resultado bioquímico y el de imagen (*Figura 1*).

SEGUIMIENTO DESPUÉS DEL TRATAMIENTO EN ACROMEGALIA

La evaluación bioquímica después del tratamiento en pacientes con acromegalia debe realizarse mediante la medición de GH e IGF-1.

1. Medición de GH

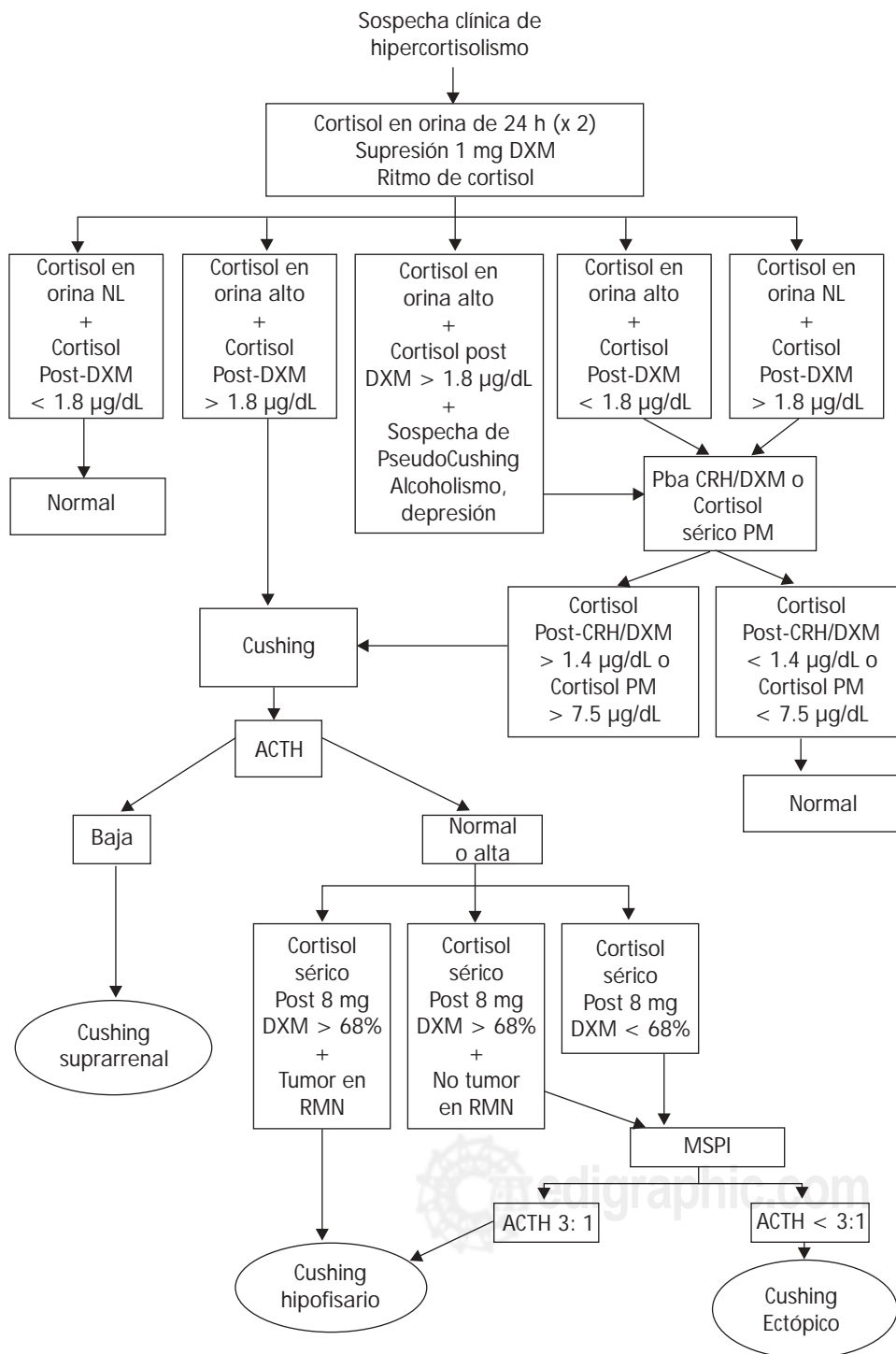
La medición de esta hormona ha evolucionado desde los RIAs policlonales de limitada sensibilidad a los ensa-

yos actuales de doble sitio con doble anticuerpo monoclonal (ensayos ultrasensibles) con límites de sensibilidad menores a 0.1 µg/L, los cuales permiten la cuantificación de niveles previamente indetectables de GH.

La importancia en la medición de GH radica en la información proporcionada por estudios epidemiológicos,

que han mostrado que el nivel de GH es un indicador pronóstico de mortalidad.²²⁻²⁴

Estudios como el de Haldaway muestran qué niveles de GH de 1 a 2 µg/L (medida por RIA policlonales) son necesarios después del tratamiento para igualar la mortalidad de los pacientes a la de la población normal.²³ La



Modificado de: Mercado M, Espinosa de los Monteros AL. Síndrome de Cushing. Desafíos diagnósticos y terapéuticos. Gac Méd Méx 2000; 136: 123.

Figura 1. Algoritmo sugerido para el estudio del paciente con sospecha de Cushing.

falta de control de GH por otro lado, se asocia a un aumento en la mortalidad de cerca de 3.5 veces.²²

Pruebas dinámicas:

- Curva de tolerancia a la glucosa oral:
Esta prueba evalúa la neuroregulación en la secreción de GH.
Con base en estudios previos utilizando ensayos ultrasensibles, el consenso llevado a cabo en 1999 en Italia marcó como criterio normal de supresión (y por lo tanto de buen control después de tratamiento) un nadir de GH de menos de 1 µg/L después de administrar una carga oral de 75 g de glucosa.²⁵ Estudios más recientes sin embargo, han mostrado que en sujetos sanos los niveles de GH después de la carga de glucosa son todavía menores a este corte.²⁶ Por otro lado, en un estudio de seguimiento a largo plazo, se encontró que 5 de 19 pacientes operados por acromegalia que tenían IGF-1 normal y un nadir de GH (posterior a la carga de glucosa) menor de 1 µg/L pero mayor que el de sujetos sanos (0.14 µg/L), presentaban después de 2 a 6 años elevación en el nivel de IGF-1, es decir reactivación bioquímica de la acromegalia.²⁶ Un nuevo consenso publicado hace un año, sugiere que un nivel de GH después de carga oral de glucosa de 0.3 µg/L (medida con ensayos ultrasensibles) puede reflejar una dinámica neurosecretora normal, sin embargo no existen datos en cuanto a que este nivel sea esencial para lograr una reducción en el riesgo de mortalidad.²⁷
- Las pruebas de estimulación con TRH, GHRH y GnRH no ofrecen información adicional para el seguimiento después del tratamiento en acromegalia.

2) Medición de IGF-1

Esta hormona es un indicador del estado de GH en acromegalia y es el mejor marcador bioquímico de actividad clínica en esta enfermedad. Sin embargo, el papel que desempeña como indicador de sobrevida a largo plazo en la acromegalia, es controversial. Estudios como el Swearingen y Beauregard han mostrado una asociación entre la normalización de esta hormona y una reducción de la mortalidad comparable a la de la población normal,^{28,29} sin embargo un estudio reciente que involucró un gran número de pacientes no logró demostrar dicha asociación.³⁰ Las evaluaciones de IGF-1 deberán siempre ser interpretadas de acuerdo a la edad y sexo del paciente siendo necesaria su normalización para determinar buen control en acromegalia.

De lo anteriormente descrito se concluye que la medición de ambas hormonas: GH e IGF-1 es indispensable para conocer el estado de actividad o inactividad de la acromegalia después del tratamiento. Se recomienda que

la primera evaluación se realice hasta tres meses después de la cirugía, ya que la IGF-1 puede tardar algunos meses en estabilizarse. En cerca del 30 al 40% de los casos pueden encontrarse resultados discordantes entre el nivel de GH e IGF-1^{27,31,32} por lo que dependiendo del estado clínico de la enfermedad se decidirá acerca de la necesidad de algún otro tratamiento. Por otro lado, hemos observado que hasta en un 25% de los casos puede modificarse espontáneamente el nivel de GH y/o IGF-1 durante el primer año de seguimiento después del tratamiento, sobre todo en aquellos pacientes con resultados discordantes, por lo que en algunas ocasiones será necesario únicamente mantener observación.³²

BIBLIOGRAFÍA

1. Terzolo M, Pia A, Alin A, Osella G, Reimondo G, Bovio S et al. Adrenal incidentaloma: a new cause of the metabolic syndrome? *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 998-1003.
2. Wu T, Machacelo D, Jiang N, Hao P. Urinary free cortisol and cortisone determined by high performance liquid chromatography in the diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 151-5.
3. Findling J, Raff H. Diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2001; 30: 729-47.
4. Nieman L, Cutler G. The sensitivity of the urine free cortisol measurement as screening test for Cushing's syndrome. En: Programs and abstracts of the Endocrine Society 72nd Annual Meeting, Atlanta GA 1990; pp 822.
5. Findling JW, Raff H, Aron DC. The low-dose dexamethasone suppression test: a reevaluation in patients with Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1222-6.
6. Isidori AM, Kaltsas GA, Mohammed S et al. Discriminatory value of the low-dose dexamethasone suppression test in establishing the diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5299-306.
7. Word P, Barth J, Freedman D, Perry L, Sheridan B. Evidence for the low dose dexamethasone suppression test to screen for Cushing's syndrome, recommendations for a protocol for biochemistry laboratories. *Ann Clin Biochem* 1997; 34: 222-9.
8. Gorges R, Knappe G, Herl H. Diagnosis of Cushing's syndrome: Re-evaluation of midnight plasma cortisol vs urinary free cortisol and low-dose dexamethasone suppression test in a large patient group. *J Endocrinol Invest* 1999; 22: 241-49.
9. Newell-Price J, Trainer P, Perry L et al. A single sleeping midnight cortisol has 100% sensitivity for the diagnosis of Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol* 1995; 43: 545-50.
10. Putignano P, Toja P, Dubini A, Giraldo F, Corsello S, Cavagnini F. Midnight salivary cortisol vs urinary free and midnight serum cortisol as screening tests for Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 4153-7.
11. Yanovski J, Gordon C, Chrousos G, Nieman L. Corticotropin realizing hormone stimulation following low dose dexamethasone.

- thasone administration. A new test to distinguish Cushing's syndrome from pseudo-Cushing states. *JAMA* 1993; 269: 2232-38.
12. Papanicolaou D, Yanovski J, Cutler G, Chrousos G, Nieman L. A single midnight serum cortisol measurement distinguishes Cushing's syndrome from pseudo-Cushing status. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1163-7.
 13. Moro M, Putignano P, Losa M, Invitti C, Maraschini C, Cavagnini F. The desmopressin test in the differential diagnosis between Cushing's disease and pseudo-Cushing states. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3569-74.
 14. Lindsay J, Nieman L. Differential diagnosis and imaging in Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin NA* 2005; 34: 403-21.
 15. Ilias I, Torpy D, Pacak N, Mullen N, Weley R, Nieman L. Cushing's syndrome due to ectopic corticotropin secretion: twenty years' experience at the National Institute of Health. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 4955-4962.
 16. Raff H, Findling J. A physiologic approach to diagnosis of Cushing syndrome. *Ann Intern Med* 2003; 138: 980-991.
 17. Flack M, Oldfield E, Cutler G, Zweing M, Malley J, Chrousos G et al. Urine free cortisol in the high dose dexamethasone suppression test for the differential diagnosis of the Cushing's syndrome. *Ann Intern Med* 1992; 116: 211-17.
 18. Tyrrel J, Findling J, Aron D, Fitzgerald P, Forsham P. An overnight high dose dexamethasone suppression test for rapid differential diagnosis of Cushing's syndrome. *Ann Intern Med* 1986; 104: 180-6.
 19. Dichek H, Nieman L, Oldfield E, Pass H, Malley J, Cutler G. A comparison of the standard high dose dexamethasone suppression test for the differential diagnosis of adrenocorticotropin dependent Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 418-22.
 20. van den Bogaert D, de Herder W, de Jong F, Biemond P, van der Lely, Lamberts S. The continuous 7-hour intravenous dexamethasone suppression test in the differential diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol* 1999; 51: 193-8.
 21. Nieman L, Oldfield E, Wesley R, Chrousos G, Loriaux L, Cutler G. A simplified morning ovine corticotropin releasing hormone stimulation test for the differential diagnosis of adrenocorticotropin-dependent Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 1308-12.
 22. Bates A, Van't Hoff W, Jones J, Clayton R. An audit of outcome of treatment in acromegaly. *Q J Med* 1993; 86: 293-299.
 23. Haldaway I, Rajasoorya R, Gamble D. Factors influencing mortality in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 667-674.
 24. Ayuk J, Clayton G, Holder M, Sheppard M, Stewart P, Bates A. Growth hormone and pituitary radiotherapy, but not serum insulin-like growth factor-I concentrations, predict excess mortality in patients with acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1613-17.
 25. Giustina A, Barkan A, Casanueva F, Cavagnini F, Forman L, Ho K et al. Criteria for use of acromegaly: a consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 526-29.
 26. Freda P, Nuruzzaman A, Reyes C, Sondeen R, Post K. Significance of "abnormal" nadir growth hormone levels after oral glucose in postoperative patients with acromegaly in remission with normal insulin-like growth factor-I levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 495-500.
 27. Biochemical assessment and long term monitoring in patients with acromegaly: statement from a joint consensus conference of the Growth hormone Research Society and the Pituitary Society. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 3099-3102.
 28. Swearingen B, Barker FG, Katznelson L, Biller BM, Grinspoon S, Klibanski A et al. Long-term mortality after transsphenoidal surgery and adjunctive therapy for acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 3419-3426.
 29. Beauregard C, Truong U, Hardy J, Serri O. Long-term outcome and mortality after transsphenoidal adenomectomy for acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003; 58: 86-92.
 30. Ayuk J, Clayton G, Holder M, Sheppard M, Stewart P, Bates A. Growth hormone and pituitary radiotherapy, but not serum insulin-like growth factor-I concentrations, predict excess mortality in patients with acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1613-17.
 31. Espinosa de los Monteros AL, Mercado M, Sosa E, Lizama O, Guinto G, López B, García O et al. Changing patterns of insulin-like growth factor-I and glucose-suppressed growth hormone levels after pituitary surgery in patients with acromegaly. *J Neurosurg* 2002; 97: 287-292.
 32. Espinosa de los Monteros AL, Sosa E, Cheng S, Ochoa R, Sandoval C, Guinto G et al. Evaluation of biochemical activity in acromegalic patients after pituitary surgery: a critical analysis of patients who spontaneously change disease status. *Clin Endocrinol (Oxf)*. En prensa