

VU Research Portal

Measuring testosterone: the power of a method on steroids

Bui, H.N.

2013

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Bui, H. N. (2013). *Measuring testosterone: the power of a method on steroids*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Testosteronmetingen: de kracht van een methode ‘met spierballen’

In het afgelopen decennium is er veelvuldig aandacht geweest voor de twijfelachtige kwaliteit van immunoassays voor de bepaling van totaal testosteron in serum. Mede door het ontbreken van een uitvoerbaar alternatief zijn deze immunoassays ondanks matige prestaties toch de gebruikelijke methode om testosteronconcentraties te meten. De resultaten verkregen met deze assays zouden echter tot verkeerde conclusies kunnen leiden. Dit probleem wordt nu aangepakt door klinische laboratoria die deze meetmethodes toepassen en de producenten van deze assays.

Serum totaal testosteron analyse

Er zijn drie verschillende typen technieken om testosteron in serum te meten, namelijk gaschromatografie-massaspectrometrie (ID-GC-MS), vloeistofchromatografie-tandem-massaspectrometrie (ID-LC-MS/MS) en immunoassays. In de praktijk worden immunoassays veruit het meest toegepast omdat deze methodes doorgaans geautomatiseerd zijn, waardoor de verwerkingscapaciteit groter is. ID-GC-MS geldt als de referentiemethode, maar wordt zelden toegepast in de klinische laboratoria omdat de uitvoering van deze methodes te bewerkelijk en te specialistisch is. Wij hebben een gevoelige en specifieke meetmethode voor serum totaal testosteron ontwikkeld met behulp van ID-LC-MS/MS die vergelijkbaar presteert met de geregistreerde referentiemethode (ID-GC-MS) (hoofdstuk 2 en 4). Vervolgens hebben wij de ID-LC-MS/MS ingezet om de in Nederland anno 2012 meest gebruikte commerciële immunoassays te evalueren, inclusief twee nieuwe-generatie immunoassays die net op de markt zijn gebracht (hoofdstuk 3). Wij vonden dat de kwaliteit van de immunoassays voldoende was voor het meten van testosteronconcentraties in gezonde mannen. Echter, bij lage concentraties, die bijvoorbeeld bij vrouwen voorkomen, waren er grote verschillen in kwaliteit tussen immunoassays waarneembaar. In deze zelfde studie hebben wij gedemonstreerd dat de accuraatheid van de immunoassays over het algemeen verbetert door de monsters voor te bewerken middels een vloeistofextractie.

Serum totaal testosteron in de klinische praktijk

Omdat tot voor kort vooral immunoassays werden ingezet voor het meten van testosteron, is er weinig betrouwbare data van testosteronwaarden in populaties met lage testosteronconcentraties (vrouwen, hypogonadale mannen en kinderen). In dit proefschrift wordt daarom tevens beschreven hoe wij onze ID-LC-MS/MS methode ingezet hebben om klinische vraagstukken op dit gebied te beantwoorden.

In hoofdstuk 4 evalueren we de dagelijkse dynamiek van testosteron in vrouwen gedurende de menstruele cyclus. Onze data tonen aan dat de testosteronconcentratie statistisch significant verhoogd is rond het moment van ovulatie. Echter, de biologische variatie in individuele vrouwen, die onafhankelijk is van de menstruele cyclus, is dermate groot dat er geen rekening gehouden hoeft te worden met de dag van bloedafname. De referentiewaarden die in deze studie zijn vastgesteld, kunnen daarom toegepast worden gedurende de hele menstruele cyclus.

In navolging van hoofdstuk 4 hebben we onderzocht of testosteronparameters zoals vrij testosteron of de vrij-androgeenindex van grotere diagnostische waarde zijn dan totaal testosteron voor het bevestigen van de diagnose polycysteus ovarieel syndroom (PCOS) (hoofdstuk 5). We vonden dat vrij testosteron en de vrij-androgeenindex, dus de parameters die berekend worden aan de hand van de gemeten concentratie testosteronbindend eiwit, groter onderscheidend vermogen hebben tussen gezonde vrouwen en vrouwen met PCOS. Verder hebben wij op basis van deze data de biologische variatie van testosteron in vrouwen en analytische criteria voor meetmethodes voor testosteron kunnen vaststellen. De studies beschreven in zowel hoofdstuk 4 als hoofdstuk 5 zijn tevens uitgevoerd met een tweede-generatie testosteron immunoassay. Vergeleken met de ID-LC-MS/MS-methode mat deze immunoassay consequent een hogere testosteronconcentratie. Desalniettemin waren er grote analytische en klinische overeenkomsten tussen de twee methodes.

Hypogonadale mannen hebben een lage concentratie testosteron, met name mannen die behandeld worden met androgeenverlagende therapie (medicinale of chirurgische castratie) voor prostaatkanker. Deze therapie is erop gericht testosteron te verlagen tot castratieniveau (< 1.7 nmol/L). Het monitoren van deze therapie middels het meten van testosteron is noodzakelijk, maar wordt bemoeilijkt door de slechte prestaties van immunoassays bij deze lage concentraties. Met behulp van de in dit proefschrift beschreven ID-LC-MS/MS-methode hebben wij de testosteronconcentratie in patiënten die LHRH-agonist therapie ontvingen en patiënten die chirurgisch gecastreerd zijn geëvalueerd (hoofdstuk 6). Opvallend genoeg vonden wij dat de patiënten die medicinaal behandeld werden een lagere testosteronconcentratie hadden dan de patiënten die een prostaatverwijdering hadden ondergaan. Meer onderzoek is nodig om de klinische relevantie hiervan vast te stellen. Deze uitkomst wakkert de discussie aan of de juiste grens wordt gehanteerd in de definitie van castratieniveau of dat deze naar beneden moet worden bijgesteld.

Naast de toepassing in vrouwen en hypogonadale mannen is een gevoelige en accurate testosteronmethode ook van belang bij kinderen. Deze groep patiënten is kwetsbaar en

onderzoek is om ethische redenen gelimiteerd. Een niet-invasieve monsterafnameprocedure als alternatief voor bloed, zoals een procedure die gebruikmaakt van speeksel, kan het onderzoek vereenvoudigen. We hebben daarom een ID-LC-MS/MS-methode ontwikkeld voor het meten van testosteron in speeksel. Naast het vaststellen van referentiewaarden in volwassen mannen, hebben we deze methode ingezet om het testosteronprofiel te onderzoeken in vrouw-naar-man transgender-jongeren die behandeld worden met testosteron-estermixinjecties (hoofdstuk 7). De extreme concentraties die we hebben gemeten, supra-fysiologisch direct na injectie gevolgd door relatief lage concentraties tegen het einde van de inter-injectie periode, zouden invloed kunnen hebben op het welzijn van de patiënt. Wij verwachten dat de methode voor bepaling van testosteron in speeksel ook toepasbaar zou kunnen zijn in kinderen.

Conclusie en discussie

In dit onderzoek hebben wij meetmethodes voor testosteron ontwikkeld met behulp van ID-LC-MS/MS en deze ingezet voor verschillende klinische vraagstukken. Het is duidelijk dat deze methodes superieur zijn aan (geautomatiseerde) immunoassays, met name bij kinderen, vrouwen en hypogonadale mannen. De juistheid van de methode is niet alleen te danken aan de techniek, maar hangt ook samen met de monstervoorbewerking – met andere woorden, de juistheid van een methode is gebaseerd op de gehele procedure. Uitgebreide monstervoorbewerking bevordert de juistheid en precisie; de keerzijde is echter dat de doorlooptijd zodanig verlengd wordt dat de methode niet geschikt is voor routinediagnostiek. Daarnaast zijn een grote financiële investering en technische expertise essentieel voor de implementatie van de LC-MS/MS-techniek in de routine, hetgeen vooral voor kleinere laboratoria problematisch kan zijn. De huidige generatie MS/MS-instrumenten is stabiel en gebruiksvriendelijker dan de vorige generaties, maar het is geen uitzondering dat een instrument een week lang buiten bedrijf is vanwege storing of onderhoud.

We kunnen concluderen dat er vooralsnog geen snelle én makkelijke testosteronmethode beschikbaar is met een grote juistheid én precisie. Het is echter wel van belang om voor elke klinische vraag een methode te selecteren die voldoende onderscheidend vermogen heeft om een betrouwbaar antwoord te kunnen geven op deze vraag. In de discussie van dit proefschrift hebben wij een grove indeling gemaakt van de beschikbare testosteronmeetprocedures. Om een testosteronwaarde te kunnen interpreteren, is het cruciaal om je bewust te zijn van de beperkingen van de gebruikte meetprocedure in relatie tot de referentiewaarden van de verschillende populaties. Met deze informatie hebben wij getracht de klinische toepasbaarheid van de verschillende categorieën meetprocedures in kaart te brengen.

In de afgelopen jaren is er vooruitgang geboekt op het gebied van bewustwording van de kwaliteit van tetosteronmetingen en het verbeteren van deze kwaliteit, maar het uiteindelijke doel is nog niet bereikt. Om financiële redenen zijn laboratoria nog vaak gedwongen om in te leveren op de kwaliteit van tetosteronmetingen. Desalniettemin wordt er veel inspanning geleverd – en dit moedigen wij ook aan – om tot een situatie te komen waarbij tetosteronwaarden vergelijkbaar zijn tussen verschillende methoden en laboratoria. Een techniek alleen, bijvoorbeeld GC-MS of LC-MS/MS, maakt geen gouden standaard: de juistheid en precisie van een methode zijn gebaseerd op de gehele meetprocedure. De interpretatie van tetosteronwaarden dient zorgvuldig te worden gedaan, rekening houdend met de biologische variatie en laboratoriumspecifieke referentiewaarden.