

30. Elmlinger MW, Kuhnel W, Weber MM, Ranke MB. Reference ranges for two automated chemiluminescent assays for serum insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-binding protein 3 (IGFBP-3). *Clin Chem Lab Med* 2004; 42: 654-64.
31. Quarmby V, Quan C, Ling V, Compton P, Canova-Davis E. How much insulin-like growth factor I (IGF-I) circulates? Impact of standardization on IGF-I assay accuracy. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1211-6.
32. Ranke MB, Feldt-Rasmussen U, Bang P, Baxter RC, Camacho-Hubner C, Clemmons DR et al. How should insulin-like growth factor I be measured? A consensus statement. *Horm Res* 2001; 55 Suppl 2: 106-9.
33. Ballieux BEPB. IGF-1 and IGF-BP3 reference values using LMS method. In: Dutch Growth Foundation, editor. *Growth Analyser 3. Application*. PO Box 23068, 3001 KB, Rotterdam, The Netherlands, 2006.
34. www.dslabs.com/docs/techlit/core_literature/Igf_I_Nomogramgirls.Pdf

Summary

IGF-1 and IGF-BP3. Age dependent reference values and method differences. Ballieux BEPB. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2007; 32: 32-38.

Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) is the most important mediator of the biological actions of growth hormone (GH). More than 80% of IGF-1 is bound to IGF-binding protein 3 (IGF-BP3). The concentration of both proteins is strongly age-related with steep increase before and during puberty and a gradual decrease from 20 years of age until old age. This age dependency is a challenge for the establishment of reference values. For the correct clinical interpretation, SD scores are necessary for each age. Several studies have reported reference-value curves for both proteins. The differences between these studies are mostly explained by differences in calibration, although differences in the statistical approach and in the populations used may also be responsible for the observed differences.

Keywords: IGF-1; IGF-BP3; reference values; LMS method

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2007; 32: 38-42

Gemeten en berekend vrij testosteron

H.A. ROSS

Meet- en berekeningsmethoden voor serum-vrij-testosteron worden in het kort besproken, waarbij de conclusie getrokken wordt, dat indien over betrouwbare testosteron- en SHBG-bepalingen kan worden beschikt, het voor routinedoeleinden beter is om vrij testosteron te berekenen, dan met een commerciële immunoassay te werken. Vanzelfsprekend hangt de kwaliteit van het resultaat af van de kwaliteit van de hierbij gebruikte totaaltestosteron- en SHBG-bepalingen. Voor de desondanks bestaande verschillen is een rekenprogramma gedistribueerd waarbij gepoogd wordt het effect van deze verschillen te verkleinen. Vanwege de twijfelachtige kwaliteit van de meeste testosteronimmunoassays in het lage concentratiegebied, moet routinematig meten bij vrouwen voornamelijk afgeraden worden.

De waarde van de toepassing van gemeten of berekend vrij testosteron voor de detectie van hypoandrogenisme bij de oudere man hangt af van het feit of hier van een relevante klinische entiteit sprake is.

Trefwoorden: testosteron

De relatie tussen totaal en vrij testosteron (Te en FTe) wordt volgens de wet van de massawerking bepaald

Universitair Medisch Centrum Nijmegen St Radboud, Afd. Chemische Endocrinologie.

Correspondentie: dr. H.A. Ross, 479 Afd. Chemische Endocrinologie, UMC St Radboud, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen
E-mail: a.ross@ace.umcn.nl

door concentratie en affiniteit van de belangrijkste testosteronbindende eiwitten in serum, sexhormoonbindend globuline (SHBG) en albumine. Ook wordt Te door CBG gebonden, maar dit is kwantitatief van weinig belang. In 1981 publiceerden Dunn en Nisula (1) een uitgebreide simulatiestudie waarin de verdeling van de 21 belangrijkste natuurlijk in serum voorkomende steroïden over de bindende eiwitten CBG, SHBG en albumine werd beschreven. Hoewel de berekeningen in deze studie gebaseerd waren op schattingen van evenwichtsconstanten, die veelal niet onder werkelijk fysiologische omstandigheden waren gemeten, komt toch een globaal goed hanteerbaar geheel naar voren. Wanneer concentratie en affiniteit van de bindende eiwitten, alsmede de totale testosteronconcentratie bekend zijn, moet het vrije testosteron m.b.v. een uit de wet van de massawerking afgeleide formule te berekenen zijn. Vermeulen, Södergard en Emadi-Konjin (2-4) gebruikten allen in feite dezelfde, hierop gebaseerde formule, alleen met gebruik van verschillende schattingen van de betreffende evenwichtsconstanten.

Meting van FTe

Om berekend en gemeten FTe te kunnen vergelijken moeten zowel de meting als de gebruikte waarden voor de evenwichtsconstanten juist zijn. Meetmethoden (exclusief directe immunoassays) voor vrij Te zijn samengevat in tabel 1. Hierbij moet opgemerkt worden, dat 'evenwichtsdialyse' of 'ultrafiltratie' niet zonder meer garant staat voor een betrouwbare meting. Bij evenwichtsdialyse is men er zich vaak niet

van bewust dat het dialysaatvolume meetelt in de totale verdunning (5), terwijl het exacte effect van verdunning alleen voorspelbaar is als alle relevante bindingsparameters bekend zijn. Zonder deze kennis is de enig juiste benadering de volgende formule (6):

$$f'_0 = 1/(c_0/c_2 - V_t/V_0 + 1)$$

waarbij:

f'_0 = schatting van de vrije fractie voor onverdund serum

c_0 = concentratie radioactiviteit in het onverdunde serum, vóór dialyse

c_2 = concentratie radioactiviteit in het dialysaat na evenwichtsinstelling

V_t = totaal volume (dialysand + dialysaat) van het systeem

V_0 = volume van het onverdunde serum in het systeem

Voorbeeld: 0,2 ml serum +10.000 dpm tracer in 0,8 ml buffer dialyseren tegen 10 ml buffer;

$c_0 = 50.000$ dpm/ml, $c_2 = x$ dpm/ml, $V_0 = 0,2$ ml $V_t = 11$ ml, de vrije concentratie komt overeen met die bij 55 maal verdunning.

Een sterke verdunning wordt vaak toegepast om de noodzaak tot uitvoerige tracerzuivering te verminderen. Vaak wordt nog de berekening volgens Slaunwhite en Sandberg (7) gebruikt, waarbij de dialysaat-radioactiviteit door die van het dialysand wordt gedeeld. Hierbij kan de laatste artefactueel verlaagd zijn doordat, t.g.v. osmotische druk, buffer naar het serumcompartiment migreert. Verder is het belangrijk een fysiologische buffer te gebruiken. Vooral de concentratie van chloride is van belang.

Als i.p.v. tracertoevoeging een werkelijke meting van het ligand in het dialysaat gedaan wordt, wijzigt de formule in:

$$F'_0 = H_0/(H_0/F - V_t/V_0 + 1)$$

waarbij:

F'_0 = schatting van de vrije concentratie voor onverdund serum

F = gemeten vrije concentratie in het dialysaat

H_0 = totale concentratie in onverdund serum

Het voordeel van deze benadering is, dat de verdunning veel minder sterk kan zijn, en geen tracer gezuiverd hoeft te worden. Voor FTe bij vrouwen kan echter de bepalingsevoeligheid beperkend worden.

Bepaling van evenwichtsconstanten

Vermeulen (2) kreeg een goede overeenstemming met zijn evenwichtsdialyse door een schatting van de Te-SHBG-evenwichtsconstante, die op complexe wijze door Moll (8) bepaald was, te gebruiken in plaats van zijn eigen meting (9). Emadi-Konjin (4) stelde de schattingen van de evenwichtsconstanten bij zodat de overeenstemming met de via ammoniumsulfaat-precipitatie verkregen niet-SHBG-gebonden Te werd geoptimaliseerd. Ly (10) en Morris (11) vervingen het massawerkingsmodel door een empirische vergelijking om overeenstemming te bereiken met d.m.v. ultrafiltratie resp. ammoniumsulfaatprecipitatie (via niet-SHBG-gebonden Te) verkregen resultaten. Opge-merkt moet worden, dat vrij Te en albuminegebonden Te in een eenvoudige relatie tot elkaar staan, zodat ze gemakkelijk in elkaar om te rekenen zijn. De Ronde (12) vergeleek de berekeningen zonder daar een werkelijke meting bij te betrekken. In plaats daarvan ging hij uit van de veronderstelling, dat FTe en SHBG intrinsiek niet met elkaar correleren, omdat veranderingen in SHBG door de hypofyse-gonadenas en/of tijdelijke wijziging van de eliminatiesnelheid worden gecompenseerd, zodat geen correlatie gevonden mag worden tussen (berekend) FTe en SHBG. Op grond hiervan bleken de Södergard- en Vermeulen-algoritmen het, met de dataset van De Ronde, het beste te doen.

De door ons gehanteerde benadering (13) maakt gebruik van een set van 30 monsters van oudere man-

Tabel 1. Metingen van vrij Te en gerelateerde indices

Evenwichtsdialyse/RIA	Te RIA in dialysaat	(6, 13)*
Evenwichtsdialyse + RIA	% tracer in dialysaat, vermenigvuldigd met uitkomst RIA-totaal-Te	(2, 9)
Ultrafiltratie + RIA	% tracer in filtraat, vermenigvuldigd met uitkomst RIA-totaal-Te	(10)
Ultrafiltratie/ID-GC/MS	ID-GC/MS voor Te in filtraat	(15)
Symmetrische dialyse + RIA	% vrij Te, vermenigvuldigd met uitkomst RIA-totaal-Te	(6, 13)
'Bioactief', niet-SHBG-gebonden Te	Ammoniumsulfaat precipitatie serum: %Te-tracer in supernatant, vermenigvuldigd met uitkomst RIA	(6, 11)
Berekeningen uit totaal Te en SHBG, evt. albumine		
FTe	Via wet van de massawerking	(2, 3, 13)
FTe	Empirische formule	(10, 11)
n-SHBG-Te	Uit Te en FTe	
Albumine-gebonden Te	Uit Te, FTe en albumine	
SHBG-Te	Uit Te en albumine-Te of FTe en SHBG	

Lijst van bepalingmethoden en berekeningen van FTe en verwante parameters.

* Genoemde methode is niet in detail beschreven, maar wordt gebruikt voor kalibratie van symmetrische dialyse.

nen ($64,3 \pm 9,0$ jaar) waarin vrij Te was bepaald d.m.v. symmetrische dialyse en een RIA met extractie en chromatografie (14). Deze methode was op 40 monsters van mannelijke vrijwilligers vergeleken met de combinatie ultrafiltratie/ID-/GC/MS van Van Uyt-fanghe (15) en gaf daarmee vrijwel identieke resultaten. De resultaten van de symmetrische dialyse werden vervolgens gebruikt om een schatting van de dissociatieconstanten van Te-SHBG en Te-albumine te verkrijgen. Hiervoor werd een transformatie van de massawerkingsformule gebruikt:

$$[T]/[F_T] = [SHBG]/(K_{SHBG} + [F_T]) + [Alb]/K_{alb} + 1$$

waarbij:

$[F_T]$ = concentratie vrij testosteron

$[T]$ = concentratie totaal testosteron

$[SHBG]$ = concentratie SHBG

$[Alb]$ = concentratie albumine

K_{SHBG} = evenwichts(dissociatie)constante testosteron-SHBG

K_{alb} = evenwichts(dissociatie)constante testosteron-albumine

Uit deze uitdrukking volgt, dat indien de juiste waarde voor K_{SHBG} wordt ingevuld, een lineair verband ontstaat tussen $[T]/[F_T]$ en $[SHBG]/(K_{SHBG} + [F_T])$ met helling 1 en een asafsnode ter grootte van $[Alb]/K_{alb} + 1$. De gevonden waarden kunnen worden gebruikt in de gewone Vermeulen-formule om een schatting van het FTe te verkrijgen. Dit werd geëvalueerd aan de hand van een nieuwe groep van 35 oudere mannen, waarbij FTe gemeten en berekend werd (figuur 1). Op deze wijze is een consistent geheel verkregen, dat echter wel samenhangt met de toegepaste SHBG-bepaling (de testosteronbepaling is vergelijkbaar met GC/MS). Deze zal nog gekalibreerd moeten worden op bindingscapaciteit. Indien dit algoritme wordt gebruikt in combinatie met Te- en SHBG-bepalingen die hiervan afwijken, zullen vanzelfsprekend andere uitkomsten worden verkregen.

Praktische overwegingen

In het op bovenstaand algoritme gebaseerde rekenprogramma dat aan de deelnemers aan de SKML-rondzending Bindingsanalyse door de sectie Endocrinologie werd rondgestuurd, is een poging tot harmonisatie gedaan. De evenwichtsconstanten zijn gebaseerd op de Te- en SHBG-bepalingen in het UMCN. Voor ieder laboratorium werd daarom een factor voor Te en SHBG berekend op basis van de resultaten van de rondzendingen voor Te en SHBG in 2005, waarmee de waarden worden omgeschaald naar die van het UMCN. Als in het rekenprogramma het deelnamenummer wordt ingevoerd, heeft deze omrekening automatisch plaats. Het effect van deze operatie werd getest door de resultaten van de eerste vier ronden van 2006 zowel met als zonder te laten omrekenen, in te voeren. De tussenlabvariatie voor het berekende FTe werd met harmonisatie significant lager ($p < 0,001$), maar de daling van de CV op zich was verre van spectaculair: van gemiddeld 18,7 naar 15,6%.

Voor het lage FTe bij vrouwen kan de formule worden vereenvoudigd: de FTe-term (tot 25 pmol/l) is te verwaarlozen naast de waarde van K_{SHBG} (885 pmol/l). Hierdoor bestaat er een rechtlijnig verband tussen SHBG en het quotiënt Te/F_{Te}. Deze relatie is ook bruikbaar bij het valideren van FTe-metingen en -berekeningen.

Vrij versus 'bio-actief' Te

Het idee om niet-SHBG-gebonden Te ($nSHBGTe$), dat grotendeels uit albuminegebonden Te bestaat, te beschouwen als 'bioactief Te' is afkomstig van Pardridge (16), een zeer speculatieve en bestreden (17) theorie, die desondanks veel weerklank heeft gevonden. M.b.v. FTe kan direct het $nSHBGTe$ of albuminegebonden Te worden berekend. Vanwege de relatieve constantheid van de albuminespiegel is het weinig zinvol dit onderscheid te maken. Wel is het zo, dat $nSHBGTe$ significant negatief correleert ($r = -0,386$, $p < 0,02$) met het cortisol, hetgeen wijst op een niet geheel te verwaarlozen aandeel van CBG-gebonden Te in het $nSHBGTe$, zoals eerder ook met ammoniumsulfaat-precipitatie werd aangetoond (11). Echter, het in rekening brengen van dit effect levert slechts een marginale verbetering van de correlatie van 0,979 naar 0,988 op, met een reductie van de spreiding om de regressielijn van 10,7 naar 9,0 pmol/l. Overigens correleert het op deze wijze berekende FTe niet met SHBG in een groep van 226 oudere mannen waarbinnen het SHBG steeg met gemiddeld 1,8% per jaar.

Berekend FTe en andere methoden

In de meeste publicaties wordt gewezen op de beperkingen van de toepasbaarheid van FTe-berekening, zoals hoge spiegels van andere steroïden die aan SHBG kunnen binden, of erfelijke afwijkingen van de affiniteit van het SHBG. De grootste beperking ligt echter in de kwaliteit van de testosteronmeting. Vooral het meten van de lage spiegels bij vrouwen is problematisch (18).

Tot hier toe zijn alleen dialyse- en ultrafiltratiemethoden voor het daadwerkelijk meten van FTe aan de orde geweest. Er zijn ook immunoassays verkrijgbaar, die zich alle minder goed met de 'gouden standaard'-methoden laten vergelijken dan de berekeningen van het Vermeulen-type (19). Door de aard van de Te-binding is het moeilijker, zo niet onmogelijk, om een goede immunoassay voor vrij Te te ontwerpen, zoals voor vrij T4. Dat er desondanks weinig echt goede FT4-immunoassays zijn, heeft andere oorzaken. Het is zeer verhelderend FT4 en FTe met elkaar te vergelijken. In normaal serum is Te voor 1,5% vrij, T4 voor 0,02%. Voor een hanteerbare immunoassay zal, ook in een automaat, bij de incubatie met antilichaam een zekere verdunning, bv. een factor 5 optreden (50 µl monster, incubatievolume 250 µl). Dan is FT4 0,1% van het totaal en FTe 7,5%. Er is altijd een minimale hoeveelheid antilichaam nodig waarvan de bezettingsgraad als functie van de vrije hormoonconcentratie in een meetsignaal wordt vertaald. In feite bepaalt in alle drie gangbare typen immunoassays voor FT4 het aantal onbezette bindingsplaatsen het meetsignaal. De variatie met de

vrije hormoonconcentratie van het aandeel onbezette bindingsplaatsen is het grootst bij halve bezetting van het antilichaam. Bij FT4 wordt doorgaans nog een goed meetsignaal verkregen als niet meer dan rond 2% van het aanwezige T4 aan het antilichaam is gebonden, waarbij dan ongeveer een gelijk aantal plaatsen onbezet is. Dat komt onder de geschetste omstandigheden voor een serum met een T4-concentratie van 100 nmol/l neer op 0,1 pmol absoluut. Met een vergelijkbaar detectiesysteem moet deze hoeveelheid ook voor Te gelden. Dat betekent in een systeem dat geoptimaliseerd is rond 150 pmol/l (totaal Te 10 nmol/l) een onttrekking van 20% van het totaal aanwezige Te, hetgeen betekent dat sera die 10% verschillen in FTe concentratie toch als gelijk gemeten kunnen worden (en omgekeerd), afhankelijk van het totale Te. Wellicht komen er in de toekomst technieken waarbij de bezettingsgraad van veel kleinere hoeveelheden antilichaam in een meet-signaal is om te zetten. Tot nu toe is de situatie verre van optimaal en is het aan te bevelen om voor routinedoeleinden geen immunoassay maar een berekening te gebruiken, zoals die door de SKML-sectie Endocrinologie is verspreid, of een vergelijkbare benadering (2, 3)

Klinische toepassing

De belangstelling voor FTe is de laatste jaren sterk toegenomen door een trend, met name in de Verenigde Staten, om verouderingsverschijnselen te relateren aan een relatief tekort aan androgenen, zowel voor mannen als voor vrouwen. In beide gevallen betreft het een moeilijk grijpbaar geheel. In de meest recente richtlijn (20) van de Endocrine Society wordt gesteld dat androgeendeficiëntie bij vrouwen geen gevalideerde diagnose is. Als reden hiervoor wordt o.a. het gebrek aan betrouwbare metingen en data omtrent totaal en vrij Te in relatie tot de leeftijd bij vrouwen. Ook wordt gesteld dat de relatie tussen libido en testosteron te diffuus is om op grond hiervan te gaan behandelen. Enig voorbehoud geldt voor vrouwen die een ovariëctomie hebben ondergaan.

Iets minder onduidelijk is de situatie t.a.v. de oudere man. Werd aanvankelijk laag Te, 'bioactief' Te of FTe, berekend of gemeten, als criterium gezien, later bleek dat klinische criteria onontbeerlijk waren, omdat laag Te enz. ook voorkomt bij personen zonder enig symptoom. De klinische criteria werden in vragenlijsten opgenomen, waarvan de bekendste de ADAM-questionnaire is. Enigszins ironisch is het feit, dat deze vragenlijst gevalideerd werd aan de hand van meting van 'bioavailable' Te m.b.v. ammoniumsulfaat-precipitatie (21), waarbij de laagste waarde ooit gevonden bij mannen van 20-45 jaar als afkapping fungeerde. De richtlijn van de Endocrine Society (22) geeft aan, dat behandeling met testosteron alleen overwogen mag worden als er zowel klinische verschijnselen zijn als een laag Te gevonden wordt. In Nederland is men zelfs nog iets terughoudender. Zo stelt Nieuwenhuijzen Kruseman (23) dat het onduidelijk is of het wel om een klinisch relevante entiteit gaat.

Literatuur

1. Dunn JF, Nisula BC, Rodbard D. Transport of steroid hormones: binding of 21 endogenous steroids to both testosterone-binding globulin and corticosteroid-binding globulin in human plasma. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 53: 58-68.
2. Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM. A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3666-72.
3. Södergard R, Bäckström T, Shanbhag V, Carstensen H. Calculation of free and bound fractions of testosterone and estradiol 17 β to human plasma protein at body temperature. *J Steroid Biochem* 1982; 26: 801-10.
4. Emadji-Konjin P, Bain J, Bromberg IL. Evaluation of an algorithm for calculation of serum 'bioavailable' testosterone (BAT). *Clin Biochem* 2003; 36: 591-6.
5. Ekins R. Measurement of free hormones in blood. *Endocr Rev* 1990;11: 5-46.
6. Swinkels LMJW, Meulenberg PMM, Ross HA, Benraad ThJ. Salivary and plasma free testosterone and androstenedione levels in women using oral contraceptives containing desogestrel or norgestrel. *Ann Clin Biochem* 1988; 25: 354-9.
7. Slaunwhite WR, Sandberg AA. Transcortin: A corticosteroid binding protein of plasma. *J Clin Invest* 1959; 38: 384.
8. Moll GW, Rosenfield RL, Helke JH. Estradiol-testosterone binding interactions and free plasma estradiol under physiological conditions. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 52: 868-74.
9. Vermeulen A, Stoica T, Verdonck L. The apparent free testosterone concentration, an index of androgenicity. *J Clin Endocrinol Metab* 1971; 33: 759-67.
10. Ly LP, Handelsman DJ. Empirical estimation of free testosterone from testosterone and sex hormone-binding globulin immunoassays. *Eur J Endocrinol* 2005; 152: 417-78.
11. Morris PD, Malkin CJ, Channer KS, Jones TH. A mathematical comparison of techniques to predict biologically available testosterone in a cohort of 1072 men. *Eur J Endocrinol* 2004; 151: 241-9.
12. Ronde W de, Schouw YT van der, Pols HAP, Gooren LJG, Muller M, Grobbee D, Jong FH de. Calculation of bioavailable and free testosterone in men: a comparison of 5 published algorithms. *Clin Chem* 2006; 52: 1777-84.
13. Ross HA, Meuleman EJ, Sweep CGJ. A simple method for estimating equilibrium constants for serum testosterone binding resulting in an optimal free testosterone index for use in elderly men. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43: 613-6.
14. Swinkels LMJW, Hoof HJC van, Ross HA, Smals AGH, Benraad ThJ. Concentrations of salivary testosterone and plasma total, non-sex-hormone-binding globulin-bound and free testosterone in normal and hirsute women during administration of dexamethasone/synthetic corticotropin. *Clin Chem* 1991; 37: 180-5.
15. Van Uytvanghe K, Stöckl D, Kaufman JM, Fiers T, Ross HA, De Leenheer AP, Thienpont LM. Evaluation of a candidate reference measurement procedure for serum free testosterone based on ultrafiltration and isotope dilution-gas chromatography-mass spectrometry. *Clin Chem* 2004; 50: 2101-10.
16. Manni A, Pardridge WM, Cefalu W, Nisula BC, Bardin CW, Santner SJ et.al. Bioavailability of albumin-bound testosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1985;61: 705-10.
17. Ekins RP, Edwards PR. Plasma protein-mediated transport of steroid and thyroid hormones: a critique. *Am J Physiol* 1988; 255: E403-9.
18. Herold DA, Fitzgerald RL. Immunoassay for testosterone in women: better than a guess? *Clin Chem* 2003; 49: 1250-1.
19. Van Uytvanghe K, Stöckl D, Kaufman JM, Fiers T, De Leenheer AP, Thienpont LM. Validation of 5 routine assays for serum free testosterone with a candidate reference measurement procedure based on ultrafiltration and isotope dilution-gas chromatography-mass spectrometry. *Clin Biochem* 2005; 38: 253-61.

20. Wierman M, Basson R, Davis SR, Koshla S, Miller KK, Rosner W, Santoro N. Androgen therapy in women: an Endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 3697-710.
21. Morley JE, Charlton E, Patrick P, Kaiser FE, Cadeau P, McCready D, Perry III HM. Validation of a screening questionnaire for androgen deficiency in ageing males. *Metabolism* 2000; 49: 1239-42.
22. Bhasin S, Cunningham GR, Hayes FJ, Matsumoto AM, Snyder PJ, Swerdloff RS, Montori VM. Testosterone therapy in adult men with androgen deficiency syndromes: an Endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 1995-2010.
23. Nieuwenhuijzen Kruseman AC. Laet hypogonadisme ('late onset hypogonadism') bij mannen: onzekere ziekte-entiteit en reserves bij de behandeling met testosteron. *Ned Tijdschr Geneesk* 2006; 150: 1925-8.

Summary

Measured and calculated free testosterone. Ross HA. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2007; 32: 38-42.

Measurements and calculation methods for serum free testosterone are discussed, while concluding that, if reliable assays for testosterone and SHBG are available, calculation must be preferred instead of commercial immunoassays. The results evidently depend on the quality of testosterone and SHBG assays. To account for the existing method differences, a calculation program was distributed in an attempt to reduce the effect of such differences. Because of poor performance of most testosterone immunoassays in the lower measurement range, routine application for levels in females must be advised against. The value of measuring or calculating free testosterone to detect hypo androgenic states in elderly men depends on the question if this concerns a relevant clinical entity.

Keywords: testosterone

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2007; 32: 42-46

Bepaling van fertiliteshormonen anno 2006

M.W. RAUTENBERG en E.G.W.M. LENTJES

Sinds de introductie van de moderne analysers worden deze meer en meer gebruikt om oestradiol, testosteron, LH en FSH te meten. Het gevolg van het wegvallen van de handmatige bepalingen is echter dat de spreiding tussen de laboratoria is toegenomen, met name bij oestradiol en testosteron in het lage gebied. Bij een retrospectieve analyse van de LWBA-gegevens over 2005 en 2006, waarbij ook de gegevens van de 'Deutsche Ringversuch' en de rondzendingen van de UK NEQAS worden betrokken, blijkt dat de automatisering van de peptidehormonen LH en FSH een goede stap is geweest, maar dat de oestradiol- en testosteronbepalingen een zorg blijven, met name in het lage gebied (<0.2 nmol/l voor oestradiol, <5 nmol/l voor testosteron). Men kan overwegen een handmatige bepaling in te zetten voor de meting van deze steroïden in het lage concentratiegebied.

Trefwoorden: fertiliteshormonen

Sinds de introductie van de moderne analyseautomaten worden deze in toenemende mate gebruikt om de geslachtshormonen oestradiol, testosteron, LH en

FSH te meten. De eenvoud van analyse, simpele monsterbehandeling, ontbreken van radioactiviteit en de beloftes dat ook de lage concentraties aan steroïden kunnen worden gemeten, hebben hieraan bijgedragen. Voor veel laboratoria was dit een reden om de bepalingen zelf te gaan doen. Voor de steroïden waren kennelijk niet langer ingewikkelde extracties en chromatografische zuiveringen nodig, maar kon al binnen 20-30 minuten een resultaat worden verkregen. Het gevolg was dat door het verdwijnen van de radioimmunoassays de spreiding tussen de laboratoria in de resultaten van oestradiol in de rondzendingen van de LWBA alleen maar groter werd, vooral bij lagere concentraties. Dit gold niet voor de peptidehormonen (1).

Hieronder wordt getracht om uit de resultaten verkregen uit de externe kwaliteitsbewaking, enige uitspraken te doen over de prestaties van de metingen van de steroïdhormonen oestradiol en testosteron en de peptidehormonen LH en FSH. Dit kan niet anders dan een retrospectieve analyse zijn waarbij gegevens uit 2005 en 2006 zijn gebruikt.

Gebruikt worden de gegevens uit de rondzendingen van de sectie Endocrinologie van de Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Laboratoria (SKML), voorheen de LWBA (Landelijke Werkgroep Bindingsanalyse). Zoals bekend zal zijn, worden per jaar zesmaal twee monsters in drooggevroren toestand verstuurd naar alle deelnemers. Er wordt gebruik gemaakt van het serum van donoren. In deze monsters kan een groot aantal componenten worden geanalyseerd door

Universitair Medisch Centrum Utrecht, Laboratorium Klinische Chemie en Haematologie

Correspondentie: drs. M.W. Rautenberg, Laboratorium Klinische Chemie en Haematologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Postbus 85500, 3508 GA Utrecht
E-mail. m.rautenberg@umcutrecht.nl