

S-Testosteron, ultrakänslig på LCMSMS

Bakgrund/Svar/Tolkning/Bedömning

Hos mannen bildas mer än 90 % av allt testosteron i testiklarna. Hos den fertila kvinnan bildas ungefär 25 % i äggstockar och 25 % i binjurar. 50 % bildas, genom omvandling av prekursorer (bl.a. androstendion) från ovarier och binjurar, i lever, fettväv och muskler.

Testosteronhalten regleras hos mannen genom att LH från hypofysen stimulerar syntesen medan testosteronkoncentrationen i plasma hämmar LH-sekretionen via påverkan av hypothalamus. Hos kvinnan finns ingen självständig reglering av testosteronhalten.

Indikation för bestämning av testosteron med ultrakänslig metodik är vid värdering av låga nivåer av testosteron (ffa nivåer <3 nmol/L). Till exempel vid utredning av försenad eller förtidig pubertet hos pojkar, vid bedömning av effekt av antiandrogen behandling och kvinnor vid misstanke på interferens eller oklart resultat med sedvanlig rutinmetod vid utredning av hyperandrogenism hos kvinnor.

I plasma finns endast 1–2 % av testosteronet i fri aktiv form medan resten är bundet till SHBG med hög affinitet och med låg affinitet till albumin. Liksom den immunkemiska rutinmetoden mäter den ultrakänsliga masspektrometriska metoden total-testosteronhalten och även här kan man behöva ta hänsyn till dessa två proteiners koncentration för bedömning av testosteronaktiviteten.

Metodik/mätprincip

Serumprov med tillsatt intern standard (IS) extraheras med SLE-teknik, indunstas till torrhet och återlöses. Därefter kan extraktet analyseras med vätskekromatografi och tandem masspektrometri (LC-MS/MS) i "multiple reaction monitoring" (MRM) mode. På LC-systemet utförs först en on-line-extraktion på en trap-kolonn, och därefter en separation av analyterna på en analyskolonn. Med MRM mäts koncentrationen av Testosteron med en kvantifieringsjon och en kvalificeringsjon, vars kvot används för att utesluta interferens. Kvantifieringen baseras på kalibratorer med kända koncentrationer av Testosteron och toppareornas kvot med topparean för intern standard.

Interferenser och felkällor

Dehydroepiandrosteron (DHEA) och Epitestosteron är isobarer till Testosteron, och bägge dessa substanser är baslinjeseparerade från Testosteron och således undviks interferens. Påverkan av hemolys, hyperlipidemi, hyperbilirubinemi och uremi är inte testad men vi antar att någon sådan inte finns på grund av den höga specificiteten i LC-MS/MS teknologin.

Mätområde

Metodens mätområde är 0,023–3,29 nmol/L.

Mätosäkerhet

Nedan angiven mätosäkerhet är baserad på 2024 års statistik av interna kontroller.

Nivå nmol/L:	CV %:
0,39	5
2,5	5

Riktighet

Riktigheten följs kontinuerligt genom deltagande i externt kontrollprogram (UK NEQAS, Steroid hormones).

Spårbarhet

De egentillverkade kalibratorerna har analyserats och jämförts mot Chromsystems 6PLUS1® Multilevel Serum Calibrator Set Steroid Panel 2 som har spårbarhet mot NIST.

Validering

Validering av metoden [2] har utförts vid Klinisk Kemi Lund [3,4]. Riktigheten har, förutom i externt kontrollprogram, verifierats genom jämförelse med de HPLC och LC-MS/MS metoder som tidigare var i bruk vid laboratoriet samt genom jämförelse med annat laboratorium (Karoliska Universitetssjukhuset).

Referenslitteratur

1. Laurells Klinisk kemi i praktisk medicin. Lund: Studentlitteratur 2018, 10:e upplagan sid 339–341.
2. Metodbeskrivning – S-Testosteron, ultrakänslig på LCMSMS_22–3. Dok ID. 13526774
3. Metodvalidering för ultrakänslig analys av Testosteron med LC-MS. Dok ID. 20–687
4. Verifiering för ultrakänslig analys av Testosteron med LC-MS: nytt mätområde. Dok ID. 22–179
5. Liquid Chromatography-Tandem mass Spectrometry Assay for Androstenedione, Dehydroepiandrosterone, and Testosterone with pediatric and Adult Reference Intervals. Kushnir M M, Blamires T, Rockwood A L, et al. Clinical Chemistry 2010, 56(7):1138-1147