



Mise au point

# Les hormones sexuelles : comment les doser et quelles performances en clinique ?<sup>☆</sup>

*Sex hormones: Measurement and performances in clinical laboratory?*

V. Moal<sup>a,\*</sup>, J. Brossaud<sup>b,1</sup>

<sup>a</sup> Département de biochimie et génétique, CHU d'Angers, 4, rue Larrey, 49933 Angers cedex 9, France

<sup>b</sup> Département de médecine nucléaire, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

Reçu le 13 juillet 2017 ; accepté le 19 juillet 2017

Disponible sur Internet le 18 août 2017

**Mots clés :** Immunodosages ; Spectrométrie de masse ; Stéroïdes ; Hormones peptidiques

**Keywords:** Immunoassays; Mass spectrometry; Steroids; Peptides hormones

## 1. Introduction

Les résultats d'analyses rendus par le laboratoire d'hormonologie sont indispensables pour la pratique quotidienne de l'endocrinologie. Le dosage des hormones, comme par exemple les hormones sexuelles, reste aujourd'hui un point sensible à maîtriser pour les laboratoires de biologie médicale en routine.

## 2. Les dosages en hormonologie : quelles difficultés, quelles méthodes ?

Lors de la mise au point des méthodes de dosage, les industriels ou les laboratoires devront être particulièrement vigilants à différents points.

Tout d'abord, les molécules recherchées peuvent présenter une homologie de structure. Ceci est tout particulièrement vrai pour les stéroïdes. Issues du cholestérol via la stéroïdogénèse, ces molécules ont des structures très proches entre elles, expliquant les réactions croisées possibles lors de leur dosage. Ces interférences sont fréquentes avec les stéroïdes physiologiques, mais aussi avec les molécules de synthèse utilisées dans la pharmacopée.

Cette problématique se pose également avec les hormones peptidiques issues d'un même précurseur protéique. Constituées en partie de sous-unités communes, les molécules finales n'ont néanmoins pas la même activité, comme par exemple les inhibines. Comment distinguer la forme « prohormone » inactive de l'antimüllérienne hormone (AMH) de la forme active ? La trousse de dosage des gonadotrophines utilisée reconnaît-elle la molécule native avec ou sans ses formes glycosylées ? Tout ceci correspond à la standardisation des trousse. La comparabilité inter-trousse des résultats reste un problème pour les immunodosages notamment.

D'autre part, les hormones circulent liées à des protéines porteuses. Si on prend l'exemple de la testostérone, elle est présente dans le sang à seulement 1 % de sa concentration totale à l'état libre, forme biologiquement active théoriquement (le reste étant lié à la *Sex hormone binding globuline* [SHBG] et à l'albumine). Les kits disponibles mesurent la testostérone totale, l'évaluation de la forme libre est difficile au vue des faibles concentrations et des réactions croisées possibles (surtout chez la femme).

Les hormones sexuelles sont présentes dans le sang à des concentrations très faibles : quelques pmol/L seulement pour l'estradiol chez l'enfant ou la femme ménopausée par exemple. Les méthodes de dosage utilisées devront être suffisamment sensibles.

La taille des molécules à doser est variable. Il existe, d'une part, des petites molécules comme les stéroïdes (poids moléculaire autour de 300) et, d'autre part, des grosses molécules comme les hormones peptidiques. De plus, ces

<sup>☆</sup> Présentation faite lors du 10<sup>e</sup> symposium bioclinique – 13 et 14 octobre 2017, Paris. Les hormones sexuelles à travers les âges de la vie.

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [VaMoal@chu-angers.fr](mailto:VaMoal@chu-angers.fr) (V. Moal).

<sup>1</sup> GBS, SFMN.

molécules peuvent former des complexes avec des immunoglobulines (cas de la macroprolactine).

Aujourd'hui, les immunodosages sont utilisés à 99 % par les laboratoires pour mesurer les hormones sexuelles. Il existe, d'une part, les dosages par compétition pour les molécules de petite taille et, d'autre part, les dosages sandwich pour les grosses molécules.

Depuis une dizaine d'années, les laboratoires spécialisés en hormonologie ont développé des méthodes de dosage en spectrométrie de masse couplée à l'HPLC (LCMS). Il s'agit de méthodes semi-automatisées souvent avec une extraction préalable. L'étape chromatographique apporte une sélectivité qui permet de supprimer les réactions croisées. La spécificité analytique est, quant à elle, apportée par la fragmentation des molécules dans le triple quadripôle [1].

### 3. Immunodosage vs. LC-MSMS pour le dosage des stéroïdes : le débat

Le choix technologique entre LCMS, technique de référence, et les immunodosages pour les dosages de routine des stéroïdes fait débat dans la littérature [2,3].

Les auteurs préconisant l'utilisation de la LCMS soulèvent le problème de mauvaise corrélation inter-technique des immunodosages en lien avec :

- un manque de spécificité des anticorps ;
- de standardisation ;
- de sensibilité dans les valeurs basses, en particulier lorsque ces dosages sont réalisés par des appareils automatisés d'immunodosage.

Néanmoins, plusieurs études récentes montrent une amélioration notable de la précision et de la justesse des immunodosages de la testostérone et de l'estradiol [4,5], en lien avec le programme de standardisation démarré en 2013 par les centres pour le contrôle et la prévention des maladies (*Centers for disease control and prevention* [CDC]).

Les partisans d'un maintien des immunodosages pour l'analyse des stéroïdes, quant à eux, opposent les arguments suivant :

- la LC-MS a aussi ses limites qu'il est encore nécessaire d'explorer et de comprendre pour y palier (effet matrice ou effet suppression d'ion, choix de l'étalon interne isotopique, matrice de dilution des standards, condition d'extraction. . .) ;
- les dosages par LCMS sont souvent des développements « maison » expliquant certainement des variations inter-laboratoires non négligeables que montrent des publications récentes et imposant d'avoir des valeurs de référence adaptées à chaque laboratoire ;
- ces techniques encore lourdes ne sont pas facilement accessibles et resteront un outil de laboratoires spécialisés [6].

Pour résumer, il faut sans doute plutôt voir ces deux techniques comme complémentaires.

## 4. Hormones sexuelles : que doit/peut-on doser ?

### 4.1. Testostérone totale, biodisponible ou libre

L'estimation de la concentration de la testostérone libre ou de la testostérone biodisponible (c'est-à-dire la testostérone libre et celle liée à l'albumine) n'a d'intérêt que dans le cas où l'on suspecte une modification importante de la concentration de la SHBG ou de l'albumine. Leur concentration faible, résultat d'un équilibre permanent avec la testostérone totale, est délicate à déterminer. Pour la testostérone libre, deux méthodologies sont utilisables : la dialyse à l'équilibre, méthode de référence et le dosage direct. Cependant, ce dernier est décrit comme mal corrélé à la dialyse à l'équilibre. Le dosage de la testostérone biodisponible est réalisé grâce à une précipitation sélective de la SHBG suivie d'un immunodosage. Enfin, le calcul permet d'estimer de manière relativement correcte ces concentrations si les valeurs normales associées à chacun des modes de calcul sont utilisées [7,8].

### 4.2. Estradiol

L'estimation de l'imprégnation estrogénique se fait principalement par le dosage de l'estradiol (E2). Néanmoins, l'estimation de la concentration de l'estriol (E3) et de l'estrone (E1), stéroïdes moins actifs que l'E2, peut être intéressante dans certains cas particuliers. L'estriol, synthétisé pendant la grossesse, peut être utilisé comme marqueur du risque de trisomie 21. L'estrone est dosé dans certains cas de puberté précoce, de gynécomastie chez l'homme ou de suivi de traitement de la ménopause.

### 4.3. Peptides gonadiques

Les peptides gonadiques (essentiellement AMH et inhibine B) font partie du bilan d'hypogonadisme chez l'enfant et du bilan d'infertilité des deux sexes chez l'adulte. L'AMH joue un rôle central dans ces bilans, en particulier parce que, d'une part, elle varie peu en fonction du cycle et, d'autre part, parce que plusieurs publications montrent une supériorité de l'AMH, notamment pour l'évaluation de la réserve ovarienne et la prédiction à la stimulation. Même si les comparaisons inter-techniques montrent une amélioration des techniques disponibles sur le marché, il reste cependant un problème important de standardisation de ce dosage imposant des valeurs de référence propres à chaque trousse [9].

## 5. Conclusion

La mise en place de la LC-MS dans les laboratoires d'hormonologie il y a quelques années a semé le doute quant à la pérennité des immunodosages pour le dosage des hormones sexuelles au quotidien. L'accès à cette nouvelle technologie pour les laboratoires de routine ne doit pas faire oublier les objectifs de standardisation, de validation de méthode. . .

Le biologiste devra toujours rester critique face aux résultats en dialoguant avec le clinicien.

## Déclaration de liens d'intérêts

Les auteurs n'ont pas précisé leurs éventuels liens d'intérêts.

## Références

- [1] Dufour-Rainfray D, Moal V, Cloix L, et al. Mass spectrometry for steroid assays. *Ann Biol Clin* 2015;73:70–8.
- [2] Auchus RJ. Steroid assays and endocrinology: best practices for basic scientists steroidsassays and endocrinology: best practices for basic scientists. *Endocrinology* 2014;155:2049–51.
- [3] Taylor AE, Keevil B, Huhtaniemi IT. Mass spectrometry and immunoassay: how to measure steroid hormones today and tomorrow. *Eur J Endocrinol* 2015;173:D1–2.
- [4] Newman JD, Handelsman DJ. Challenges to the measurement of estradiol: comments on an Endocrine society position statement. *Clin Biochem Rev* 2014;35.
- [5] Vesper HW, Botelho JC, Wang Y. Challenges and improvements in testosterone and estradiol testing. *Asian J Androl* 2014;16:178–84.
- [6] Buttler RM, Frans M, Fanelli F, et al. Comparaison of 7 published LC-MS/MS methods for the simultaneous measurement of testosterone, androstenedione, and dehydroepiandrosterone in serum. *Endocrinol Metabol* 2015;61:1475–83.
- [7] Fabbri E, An Y, Gonzalez-Freire M, Zoli M, Maggio M, Studenski SA, et al. Bioavailable testosterone linearly declines over a wide age spectrum in men and women from the Baltimore longitudinal study of aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2016;71:1202–9. Epub 2016 Feb 27.
- [8] de Ronde W, van der Schouw YT, Pols HA, Gooren LJ, Muller M, Grobbee DE, et al. Calculation of bioavailable and free testosterone in men: a comparison of 5 published algorithms. *Clin Chem* 2006;52(9):1777–84. Epub 2006 Jun 22.
- [9] Pigny P, Gorisse E, Ghulam A, Robin G, Catteau-Jonard S, Duhamel A, et al. Comparative assessment of five serum antimüllerian hormone assays for the diagnosis of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2016;105(4):1063–9.e3.