

Dosaggi ormonali: Il ruolo del testosterone libero: quando e perché richiederlo? Come calcolarlo?

L'ipogonadismo maschile è una condizione clinica caratterizzata da un difetto della funzione testicolare con ridotta produzione di testosterone (T) (deficit androgenico) e/o spermatozoi (infertilità) causato da un'alterazione a uno o più livelli dell'asse ipotalamo-ipofisi-testicolo. I principali sintomi di ipogonadismo sono riportati nella Tabella 1.

Tabella 1. Principali sintomi e segni di ipogonadismo a insorgenza pre- o post-puberale,

Ipogonadismo in età prepuberale	Ipogonadismo in età postpuberale
Mancato o ridotto sviluppo dei caratteri sessuali secondari	Riduzione progressiva massa muscolare
Criptorchidismo	Calo della libido
Arti superiori e inferiori non proporzionati	Disfunzione erettile
Ginecomastia	Riduzione delle erezioni notturne
Massa muscolare ridotta	Aumento del grasso viscerale
	Oligo-azoospermia
	Vampate di calore
	Riduzione della concentrazione
	Riduzione della densità minerale ossea

La misurazione dei livelli sierici di testosterone totale (TT) è quindi indispensabile nell'iter diagnostico di sospetto ipogonadismo. A tal fine, le principali linee-guida ne raccomandano il dosaggio al mattino, a causa delle variazioni circadiane dei livelli di T, e con un saggio affidabile e in condizioni di digiuno (Khera et al., 2016). La maggior parte del testosterone circola nel sangue legato alla SHBG e all'albumina: solo lo 0.5-3% del testosterone circolante non è legato (libero). Pertanto i valori sierici di TT possono risultare alterati anche in tutte quelle condizioni che causano variazioni in eccesso o in difetto della produzione di SHBG (Tab. 2).

Tabella 2. Condizioni che modificano la concentrazione della SHBG.

Aumento	Riduzione
Ipertiroidismo	Trattamento con, glucocorticoidi, GH
Cirrosi epatica	Acromegalia
Trattamento con estrogeni	Ipotiroidismo
Tamoxifene	S. di Cushing
Uso di farmaci antiepilettici	
Epatiti	Iperinsulinemia
Invecchiamento	Sindrome nefrosica
	Obesità

Per questo motivo, la quantificazione dei livelli della quota libera del T è utile per la diagnosi di ipogonadismo. Importante è anche il concetto di T biodisponibile, che consiste nel T libero più la quota debolmente legata alle proteine plasmatiche.

Secondo le linee-guida delle principali società scientifiche europee, un valore sierico di TT >12 nmol/L esclude la diagnosi di ipogonadismo, mentre un valore <8 nmol/L la conferma. In queste due condizioni non è quindi necessario procedere alla quantificazione della quota libera di T se non presenti le condizioni riportate nella tabella 1. Quando invece i livelli sierici di TT oscillano tra 8-12 nmol/L (zona grigia), in presenza di sintomi, è indicato ripetere il dosaggio di TT e aggiungere la misurazione di SHBG e di albumina (in molte circostanze il valore dell'albumina può essere considerato costante a meno che non vi siano condizioni predisponenti quali epatopatie e sindrome nefrosica o malassorbimento) per la valutazione del T libero. Sebbene non esiste un consenso unanime sul limite inferiore di T libero per diagnosi di ipogonadismo, un valore <225 pmol/L (0.225 nmol/L o 65 pg/ml) è comunemente considerato sufficiente per iniziare un trattamento sostitutivo.

Le metodiche immunometriche attualmente disponibili in commercio per la misurazione del T libero non sono affidabili e tendono per lo più a sottostimare i valori della quota libera di questo ormone

(Vermeulen et al., 1999; Rosner et al., 2010) Pertanto, la misurazione dei livelli sierici di testosterone libero non va mai richiesta.

Una metodica più accurata per la valutazione del T libero e considerata come gold standard è quella della dialisi all'equilibrio. La misura indiretta del T libero si ottiene aggiungendo $^3\text{H-T}$ al campione da analizzare e, una volta raggiunto l'equilibrio, separando la quota libera di $^3\text{H-T}$ da quella legata, e poi misurando $^3\text{H-T}$ libero. Questa frazione è poi moltiplicata per il TT, ottenuto in un saggio separato. Il maggior problema potenziale con tali saggi è la possibile presenza di impurità radiochimica. I valori di T libero ottenuti con la tecnica della dialisi all'equilibrio sono abbastanza precisi, ma vengono influenzati da diverse variabili, tra cui la principale è rappresentata dai valori di TT. Inoltre questa tecnica è costosa, di non semplice esecuzione e potrebbe non essere disponibile in tutti i laboratori (Rosner et al., 2007). Un altro metodo di misurazione del T libero più accurato e preciso prevede l'utilizzo di dialisi o ultrafiltrazione abbinato alla spettrometria di massa per migliorarne la sensibilità. Nel complesso queste tecniche sono costose, complesse e non sono impiegate di routine nel laboratorio clinico (Taieb et al., 2003; Uytfanghe et al., 2005).

La stima dei livelli sierici di T libero può essere eseguita mediante l'uso di algoritmi basati sulla legge di azione di massa o per mezzo di equazioni empiriche come quella di Vermeulen (Vermeulen et al., 1999) e l'equazione di Sodergard (Sodergard et al., 1982), che tengono conto della concentrazione di TT, albumina e SHBG. Questi calcoli dipendono da una stima corretta della costante di associazione per il legame del T alla SHBG (kt) e all'albumina (kat). Ovviamente, ne deriva che la scelta di un particolare insieme di costanti può influenzare i risultati del calcolo delle concentrazioni ormonali libere e biodisponibili, alterando così il risultato delle analisi. Inoltre, non è certo che gli algoritmi composti e convalidati in un unico laboratorio possano essere applicati ai risultati di dosaggi effettuati in un laboratorio indipendente, che utilizza tecniche di analisi diverse.

Infine, bisogna considerare che il calcolo del T libero con le equazioni di Vermeulen e Sodergard risulta accurato solo quando il legame competitivo di altri ormoni steroidei con le proteine vettrici è limitato. Ad esempio, concentrazioni sovralfisiologiche di 17β -estradiolo o di DHT possono essere responsabili di una sottostima del T libero. Tuttavia, nella pratica clinica, questa evenienza risulta piuttosto rara (Ronde et al., 2006). Quindi, è possibile affermare che nonostante queste equazioni siano diffusamente utilizzate nella pratica clinica, il loro risultato può essere influenzato da numerosi fattori: per questo motivo non possono essere considerate del tutto affidabili per la valutazione del T libero (Rosner et al., 2007).

Per quanto riguarda la misurazione del T biodisponibile, la metodica più usata consiste nella precipitazione con solfato di ammonio, semplice dal punto di vista tecnico anche se può risultare poco accurata (Rosner et al, 2007), oppure è misurato mediante precipitazione con solfato di ammonio o calcolato dal T totale e SHBG. Va tuttavia considerato che il T biodisponibile è al momento solo utile ai fini di ricerca e che non esistono valori soglia condivisi.

In conclusione, la valutazione dei livelli di T libero è di ausilio per la diagnosi di ipogonadismo laddove il testosterone totale risulti normale o nella fascia compresa tra 8 e 12 nmol/l in presenza di sintomi specifici. La misurazione diretta dei livelli di T libero non è indicata con i metodi di dosaggio comunemente in uso. Quindi, tutte le volte che è necessario conoscerne i valori, è clinicamente più vantaggioso usare le formule sopraindicate e in modo particolare la formula di Vermeulen e collaboratori, facilmente reperibile online nei siti delle principali società scientifiche endocrinologiche e andrologiche (<http://www.issam.ch/freetesto.htm>).

Bibliografia

- Khera M, Adaikan G, Buvat J, Carrier S, El-Meliegy A, Hatzimouratidis K, McCullough A, Morgentaler A, Torres LO, Salonia A. Diagnosis and treatment of testosterone deficiency: recommendations from the fourth international consultation for sexual medicine (ICSM 2015). *J Sex Med.* 2016;13:1787-1804.
- Ronde W, van der Schouw YT, Pols HA, Gooren LJ, Muller M, Grobbee DE, de Jong FH. Calculation of bioavailable and free testosterone in men: a comparison of 5 published algorithms. *Clin Chem* 2006;52:1777-84.
- [Rosner W](#), [Auchus RJ](#), [Azziz R](#), [Sluss PM](#), [Raff H](#). Position statement: Utility, limitations, and pitfalls in measuring testosterone: an Endocrine Society position statement. [Clin Endocrinol Metab.](#) 2007;92:405-13.
- [Rosner W](#), [Vesper H](#); [Endocrine Society](#); [American Association for Clinical Chemistry](#); [American Association of Clinical Endocrinologists](#); [Androgen Excess/PCOS Society](#); [American Society for Bone and Mineral Research](#); [American Society for Reproductive Medicine](#); [American Urological Association](#); [Association of Public Health Laboratories](#); [Endocrine Society](#); [Laboratory Corporation](#)

- [of America](#); [North American Menopause Society](#); [Pediatric Endocrine Society](#). Toward excellence in testosterone testing: a consensus statement. [J Clin Endocrinol Metab](#). 2010;95:4542-8.
- Sodergard R, Backstrom T, Shanbhag V, Carstensen H. Calculation of free and bound fractions of testosterone and estradiol-17 β to human plasma proteins at body temperature. *J Steroid Biochem* 1982;16:801-810.
 - Taieb J, Mathian B, Millot F, Patricot MC, Mathieu E, Queyrel N et al. Testosterone measured by 10 immunoassays and by isotope-dilution gas chromatography-mass spectrometry in sera from 116 men, women, and children. *Clin Chem* 2003;49:1381-9.
 - Uytendaele K.V, Stöckla D., Kaufman J.M., Fiers T., De Leenheer A., Thienpont L.M.. 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. *Clinical Biochemistry* 2005;38:253-261.
 - 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.

Autore: Aldo E. Calogero & Laura Cimino (Catania)

Commissione Linee Guida SIAMS : Elisa Giannetta (Roma) , Sandro La Vignera (Catania), Sara Marchiani (Firenze), Pier Francesco Palego (Padova).