

COMPARACIÓN DE FÓRMULAS MATEMÁTICAS PARA ESTIMAR TESTOSTERONA LIBRE Y BIODISPONIBLE

Da Ronco Luciano José¹, Nicolás Juan Carlos¹, Medina Arnaudo Gisel Ivana²,
Diserio Gustavo Pedro¹.

1 Laboratorio LACE S.A., 2 Hospital Privado Centro Médico de Córdoba S.A.

LABORATORIO LACE S. A.

Vélez Sarsfield 528

Da Ronco, Luciano José. 0351-156650523. luchidaronco@hotmail.com.

Resumen

Introducción: la testosterona (T) es una hormona sexual. El cálculo de las fracciones libre (TL) y biodisponible (Tbio) mediante fórmulas matemáticas es sencillo, rápido y están muy bien consideradas para evaluar hipogonadismo masculino y/o hiperandrogenismo femenino. El objetivo del presente estudio fue comparar la utilidad de diferentes cálculos matemáticos destinados a predecir los valores de TL y Tbio. **Materiales y métodos:** se realizó un estudio retrospectivo en 145 hombres (16 con hipogonadismo bioquímico) y 175 mujeres (16 con hiperandrogenismo bioquímico) entre 18 - 80 años. Se calculó TL y Tbio utilizando cinco fórmulas descritas por Sodergard (TL S y Tbio S), Vermeulen (TL V y Tbio V), Ly (TL L) y Emadi-Konjin (Tbio E). **Resultados:** las diferencias entre las medianas para TL y Tbio obtenidas para cada fórmula, en mujeres y hombres fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$): en mujeres, las medianas para TL (ng/dL) fueron: TL S 0,46, TL V 0,34 y TL L 0,29; para Tbio (ng/dL) fueron: Tbio S 12,31, Tbio V 8,29 y Tbio E 2,89 respectivamente; en hombres, para TL (ng/dL) fueron TL S 9,70, TL V 8,28 y TL L 7,33, para Tbio (ng/dL) fueron: Tbio S 277,77, Tbio V 205,69 y Tbio E 95,99 respectivamente. Las distintas fórmulas mostraron buena correlación entre sí para el cálculo de TL y Tbio ($r > 0,85$; $p < 0,05$). La TL L demostró la mayor correlación con la Testosterona total (TT) en ambos grupos ($r=0,93$; $p < 0,05$). La Tbio E demostró la mayor correlación negativa con la SHBG principalmente en el grupo de mujeres ($r=-0,78$; $p < 0,05$). El análisis Bland-Altman demostró diferencias entre las distintas fórmulas utilizadas. Las curvas ROC evidenciaron un aceptable desempeño de los cálculos de TL y Tbio para el diagnóstico bioquímico de hiperandrogenemia en mujeres e hipogonadismo en hombres, donde en el grupo de mujeres TL L y Tbio S fueron las de mayor sensibilidad (81,25% para ambas fórmulas) y especificidad (98,74% y 87,42% respectivamente), en el grupo de hombres TL L y Tbio S fueron las de mayor sensibilidad (100% para ambas

fórmulas) y especificidad (98,45% y 93,80%, respectivamente). Conclusión: El desempeño de todas las fórmulas utilizadas fue aceptable en términos de sensibilidad y especificidad diagnósticas.

Palabras claves: testosterona libre, testosterona biodisponible, cálculo de testosterona, hipogonadismo, hiperandrogenismo.

Introducción

La testosterona (T) es una hormona sexual que en los hombres es sintetizada en los testículos por las células de Leydig. En las mujeres, es producida en los ovarios por las células de la teca y en tejidos periféricos (en mayor medida en tejido adiposo) a partir de precursores esteroideos como estradiol, androstenediona o dehidroepiandrosterona (1).

En hombres y mujeres adultos sanos, aproximadamente el 98% de la testosterona plasmática total (TT) circula unida a la globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG), albúmina y una pequeña proporción a la globulina transportadora de cortisol, quedando sólo un 2% de testosterona en estado libre (2).

En los hombres, aproximadamente un 40% de la hormona unida a proteínas es transportada por la SHBG; en las mujeres, en cambio, ese porcentaje asciende al 80%, debido a que presentan niveles mayores de SHBG y menores de TT; el porcentaje remanente de hormona unida a proteínas no específicas (60% en los hombres y 20% en las mujeres) circula mayoritariamente transportada por albúmina, con menor afinidad por la hormona que SHBG, lo cual permite disociarse suficientemente para ingresar en los tejidos. Esta fracción débilmente unida, junto con la hormona que circula de forma libre (TL), es considerada la fracción de testosterona biodisponible (Tbio) (1).

La SHBG es sintetizada en el hígado y secretada al torrente sanguíneo donde une los esteroides sexuales y regula su biodisponibilidad. Los niveles de esta proteína pueden sufrir variaciones: aumentan en forma paralela con estradiol (E2) o en el hipertiroidismo y disminuyen por concentraciones elevadas de T o en el hipotiroidismo; también varían con la dieta, el índice de masa corporal (IMC), la edad, la concentración de insulina y de citoquinas proinflamatorias (3,4). Por lo tanto, es importante tener en cuenta estas variaciones ya que los valores circulantes de SHBG modifican directamente los niveles de TL y Tbio.

La medida de la TL se propuso originalmente a los fines de corregir esa influencia de la SHBG sobre la concentración de TT; parecía más apropiado medir TL o Tbio que TT sobre todo cuando se investigaba hipogonadismo. Tempranamente (1974), se utilizó la técnica de precipitación con sulfato de amonio descrita por Tremblay y Dube (5). Sin embargo, para medir TL el método de referencia (o “gold estándar”) es el método de membrana de diálisis (6), aunque también fue propuesto como método de referencia un procedimiento basado en ultrafiltración con posterior dilución isotópica y cromatografía gaseosa con espectrometría de masa (EM-CG/DI) (7). Estas técnicas no son utilizadas habitualmente en laboratorios de rutina por ser muy laboriosas y poco prácticas. Por otro lado, el radioinmunoanálisis (RIA) directo para la medición de TL, es un método de mayor capacidad de trabajo pero su uso es altamente cuestionado por ser considerado inexacto (6, 8).

Alternativamente se dispone de diferentes fórmulas para calcular TL y Tbio. Algunas de ellas tienen como principio la ley de acción de masas y utilizan las constantes de asociación de la T por albúmina (k_a) y por SHBG (k_t), para calcular Tbio y TL a partir de mediciones de TT, SHBG y albúmina (8,9). Otros autores han desarrollado ecuaciones de predicción matemática para calcular los valores de TL y Tbio a partir de un gran número

de mediciones de las mismas con métodos de referencia, así como de la TT y SHBG (10-12). En el primer caso, para la utilización de esas fórmulas es importante la correcta estimación de las respectivas k_a y k_t . Sin embargo en la literatura se encuentran publicadas distintas k_t por diferentes autores: $5,97 \times 10^8$ (9), 10×10^8 (8), 16×10^8 (2), etc.

Obtenidos los valores de TT, SHBG y albúmina, el cálculo de TL y T_{bio} es sencillo y rápido. Desde hace tiempo las diferentes fórmulas matemáticas están consideradas como mejores indicadores para evaluar hiperandrogenemia en mujeres e hipogonadismo en hombres ya que se puede minimizar de esta sencilla manera el número de asociaciones falsas positivas y falsas negativas entre el estado clínico y el informe bioquímico del paciente.

El objetivo del presente estudio fue comparar la utilidad de diferentes cálculos matemáticos previamente publicados, destinados a medir TL y T_{bio} , y evaluar sus respectivas capacidades y eficacias, en términos de sensibilidad y especificidad, para predecir adecuadamente el diagnóstico bioquímico de hipogonadismo en hombres e hiperandrogenismo en mujeres.

Materiales y métodos

Pacientes

Se realizó un estudio retrospectivo, en pacientes ambulatorios de ambos sexos de entre 18 y 80 años de edad, que concurrieron al laboratorio con solicitud médica de TT, SHBG, albúmina, en el período comprendido entre enero de 2013 – mayo de 2015 de los que se recolectaron todos los resultados. Se los dividió en dos grupos de acuerdo al sexo: 175 sujetos de sexo femenino y 145 sujetos de sexo masculino. En ambos grupos se utilizó el valor de TT para su clasificación: 16 mujeres con hiperandrogenismo bioquímico ($TT > 60$

ng/dL) y 159 mujeres sin hiperandrogenismo bioquímico ($TT < 60$ ng/dL); 16 hombres con hipogonadismo bioquímico ($TT < 280$ ng/dL) y 129 hombres sin hipogonadismo bioquímico ($TT > 280$ ng/dL). Los valores de TT utilizados para dicha clasificación corresponden al límite superior en mujeres y al límite inferior en hombres de los valores de referencia del laboratorio.

Determinaciones analíticas

Las muestras fueron obtenidas entre las 8.00 y las 10.00 hs en sujetos con 8 hs de ayuno previo. Las determinaciones fueron realizadas en suero y procesadas en un autoanalizador ROCHE Cobas 6000. La metodología empleada para las determinaciones de TT y SHBG fue electroquimioluminiscencia (ECLIA). El ensayo para determinar TT es de tipo competitivo que utiliza un anticuerpo monoclonal de oveja de alta afinidad por la testosterona. El fabricante informa para este ensayo: límite de detección de 0,025 ng/mL, coeficiente de variación (CV%) intraensayo de 2,6% para 2,56 ng/mL y de 2,9% para 6,08 ng/mL, CV% interensayo de 3,6% y de 3,1% respectivamente. Para SHBG el ensayo es de tipo sándwich que emplea dos anticuerpos monoclonales específicos. El fabricante informa para este ensayo: límite de detección de 0,350 nmol/L, CV% intraensayo de 1,3% para 35,3 nmol/L y de 1,1% para 19,2 nmol/L, CV% interensayo de 1,9% y de 2,3% respectivamente. Para la determinación de albúmina la metodología empleada fue un test colorimétrico, con un CV% intraensayo de 1,1% para 3,24 g/dl y un CV% interensayo de 1,5% para 3,26 g/dl según datos del fabricante.

Para la determinación de TL y Tbio se utilizaron fórmulas matemáticas descriptas por diferentes autores. Las Tbio fueron calculadas por las fórmulas propuestas por Vermeulen

y col. (8), Sodergard y col. (9) y Emadi-Konjin y col. (10). Para el cálculo de las TL se utilizaron las fórmulas de Vermeulen y col., Sodergard y col. y Ly y col. (12).

Los autores Vermeulen y col., Sodergard y col. y Emadi-Konjin y col. se basan en la ley de acción de masas y utilizan las siguientes ecuaciones:

$$T_{bio} \text{ (mol/L)} = \{(k_a \times [\text{albúmina}] \times [TL]) / (1 + k_a \times [TL])\} + [TL]$$

$$TL \text{ (mol/L)} = \{-b + \sqrt{(b^2 + 4a[TT^2])}\} / 2a$$

donde:

$$a = k_a + k_t + (k_a \times k_t) \times ([SHBG] + [\text{albúmina}] - [TT])$$

$$b = 1 + k_t \times [SHBG] + k_a \times [\text{albúmina}] - (k_a + k_t) \times [TT]$$

Las constantes de afinidad de unión de testosterona a la SHBG (k_t) y albúmina (k_a) determinadas por los autores son: 10×10^8 L/mol y $3,6 \times 10^4$ L/mol respectivamente, descriptas por Vermeulen y col. (8); $5,97 \times 10^8$ L/mol y $4,06 \times 10^4$ L/mol propuestas por Sodergard y col. (9); $1,4 \times 10^9$ L/mol y $1,3 \times 10^4$ L/mol descriptas por Emadi-Konjin y col. (10).

El autor Ly y col. (12) elaboró dos ecuaciones matemáticas para dos rangos de concentraciones de TT:

Para $TT < 144$ ng/dL:

$$TL \text{ (pmol/dL)} = -6,593 + 19,304 \times TT + 0,056 \times SHBG - 0,0959 \times TT \times SHBG$$

Para $TT > 144$ ng/dL:

$$TL \text{ (pmol/dL)} = -52,65 + 24,4 \times TT - 0,704 \times SHBG - 0,0782 \times TT \times SHBG - 0,0584 \times TT^2$$

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa SPSS versión 15 y MedCalc versión demo. Los datos numéricos se expresan como mediana y percentiles 25 y 75. Se compararon las fórmulas de TL y Tbio empleando el test de Kruskal Wallis. Para la correlación de TL y Tbio con respecto a TT y SHBG se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman. Las diferencias entre los resultados de las fórmulas fueron graficadas según lo describe Bland–Altman (13). Se utilizaron curvas ROC para establecer sensibilidad y especificidad de las distintas fórmulas; el valor de corte se estableció según las razones de verosimilitud positiva y negativa. Fueron considerados estadísticamente significativos valores de probabilidad menores a 0,05 ($p < 0,05$).

Resultados

Las medianas y los percentiles de TL y Tbio para las diferentes fórmulas se presentan en las Tablas 1 y 2, para mujeres y hombres respectivamente.

Tabla 1-Valores descriptivos de TL y Tbio para la población de mujeres.

TL ng/dL				Tbio ng/dL			
	Mediana	Percentiles			Mediana	Percentiles	
		25	75			25	75
Sodergard	0,46	0,28	0,82	Sodergard	12,31	7,55	21,50
Vermeulen	0,34	0,20	0,63	Vermeulen	8,29	4,87	15,09
LY	0,29	0,15	0,50	Emadi-K	2,89	1,57	5,87

Las medianas difieren entre sí con $p < 0,05$.

Tabla 2-Valores descriptivos de TL y Tbio para la población de hombres.

TL ng/dL				Tbio ng/dL			
	Mediana	Percentiles			Mediana	Percentiles	
		25	75			25	75
Sodergard	9,70	7,84	12,21	Sodergard	277,77	215,72	344,25
Vermeulen	8,28	6,61	10,36	Vermeulen	205,69	160,95	258,45
LY	7,33	5,20	9,28	Emadi-K	95,99	75,22	129,04

Las medianas difieren entre sí con $p < 0,05$.

El análisis comparativo de Kruskal Wallis en ambos grupos estudiados arrojó una diferencia estadísticamente significativa con un $p < 0,0001$ entre las medianas obtenidas por las distintas fórmulas para TL y Tbio.

Los coeficientes de correlación de Spearman se presentan en las Tablas 3 y 4, para mujeres y hombres respectivamente.

Tabla 3-Coeficientes de correlación de Spearman en mujeres.

	TL S	TL V	Tbio S	Tbio V	Tbio E	TT	SHBG
TL L	0,95 ^a	0,91 ^a	0,95 ^a	0,91 ^a	0,86 ^a	0,93 ^a	-0,43 ^a
TL S		0,99 ^a	0,98 ^a	1,0 ^a	0,96 ^a	0,86 ^a	-0,66 ^a
TL V			0,98 ^a	1,0 ^a	0,97 ^a	0,81 ^a	-0,71 ^a
Tbio S				0,99 ^a	0,97 ^a	0,86 ^a	-0,66 ^a
Tbio V					0,97 ^a	0,81 ^a	-0,71 ^a
Tbio E						0,74 ^a	-0,78 ^a

L: Ly, S: Sodergard, V: Vermeulen, E: E madi-Konjin. ^a $p < 0,05$

Tabla 4-Coeficientes de correlación de Spearman en hombres.

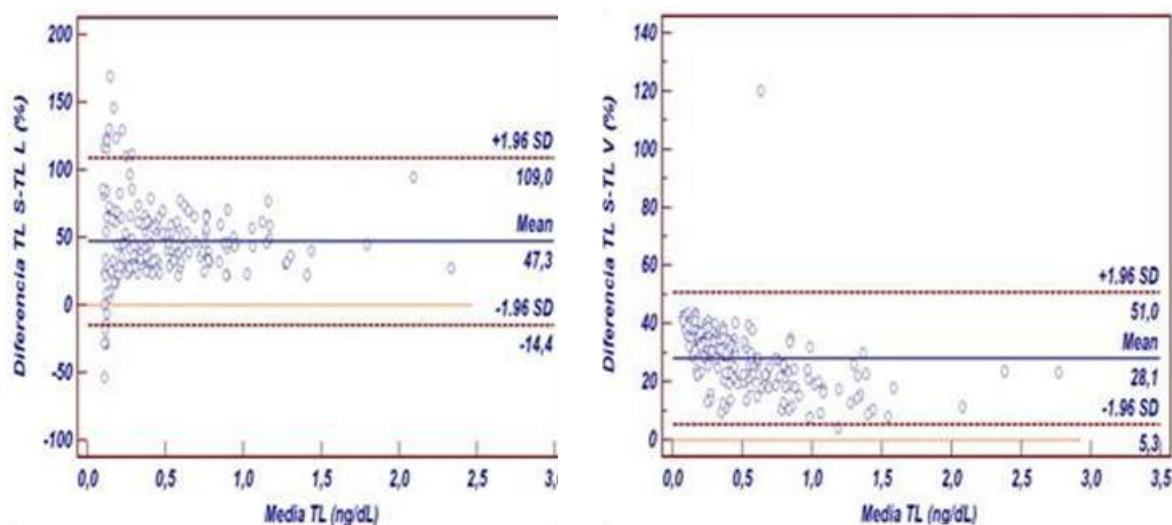
	TL S	TL V	Tbio S	Tbio V	Tbio E	TT	SHBG
TL L	0,97 ^a	0,90 ^a	0,98 ^a	0,90 ^a	0,73 ^a	0,93 ^a	0,24 ^a
TL S		0,96 ^a	0,98 ^a	0,95 ^a	0,83 ^a	0,85 ^a	0,07
TL V			0,95 ^a	0,98 ^a	0,91 ^a	0,72 ^a	-0,12
Tbio S				0,96 ^a	0,85 ^a	0,86 ^a	0,08
Tbio V					0,92 ^a	0,73 ^a	-0,11
Tbio E						0,50 ^a	-0,41 ^a

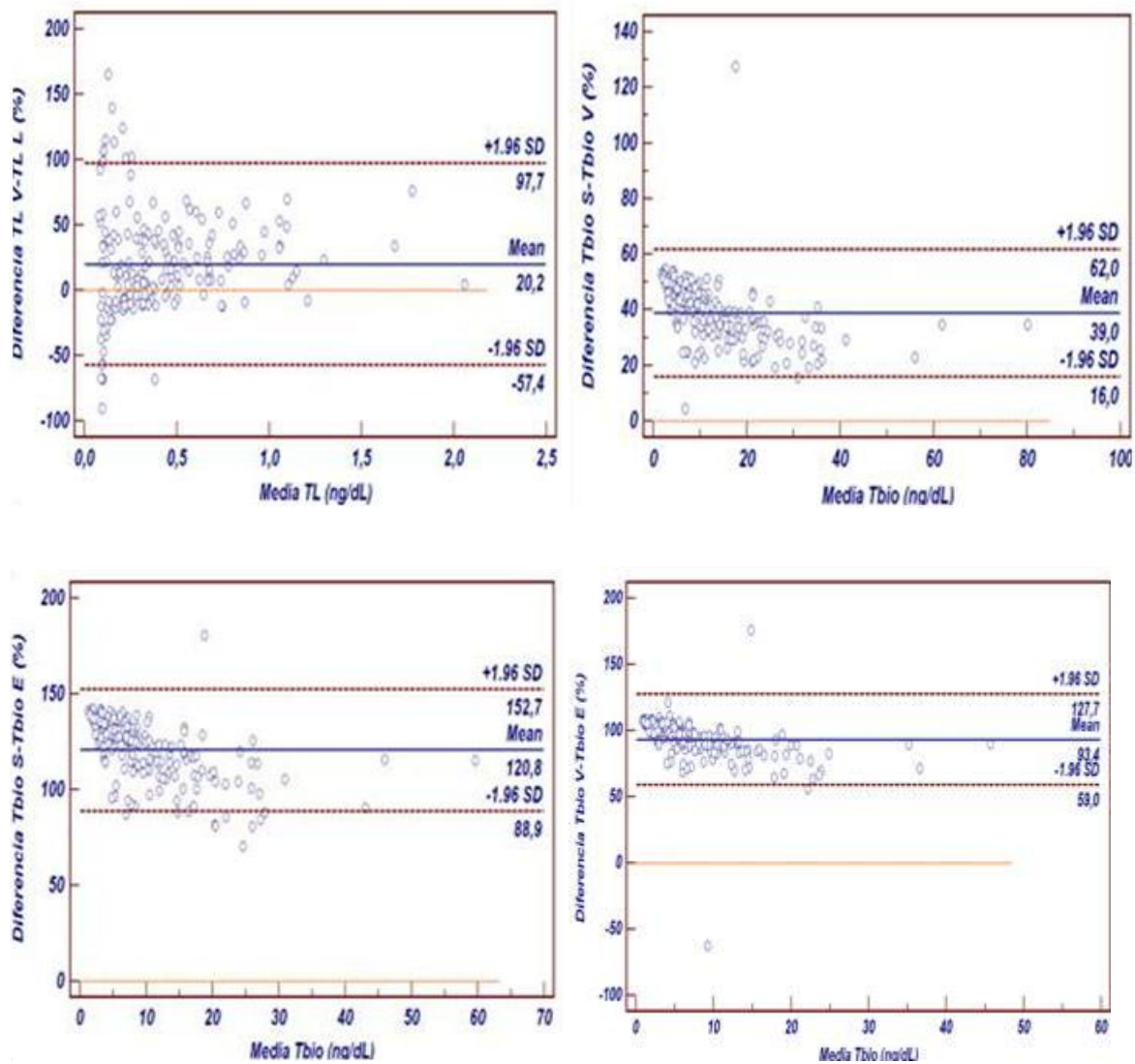
L: Ly, S: Sodergard, V: Vermeulen, E: E madi-Konjin. ^a $p < 0,05$

En ambos grupos, los valores de TL y Tbio calculados por las distintas fórmulas tienen una buena correlación entre sí. Los valores de TL y Tbio obtenidos por los distintos cálculos correlacionan de manera positiva con la TT; TL L tiene la mayor correlación con la TT y Tbio E la menor. En las mujeres, TL y Tbio correlacionan de manera negativa con la SHBG, siendo el coeficiente más alto para Tbio E y más bajo para TL L. En los hombres, sólo TL L y Tbio E presentan una correlación con la SHBG, siendo ésta muy débil.

En las Figuras I y II, se presentan los gráficos Bland-Altman donde se comparan las distintas fórmulas en ambos grupos.

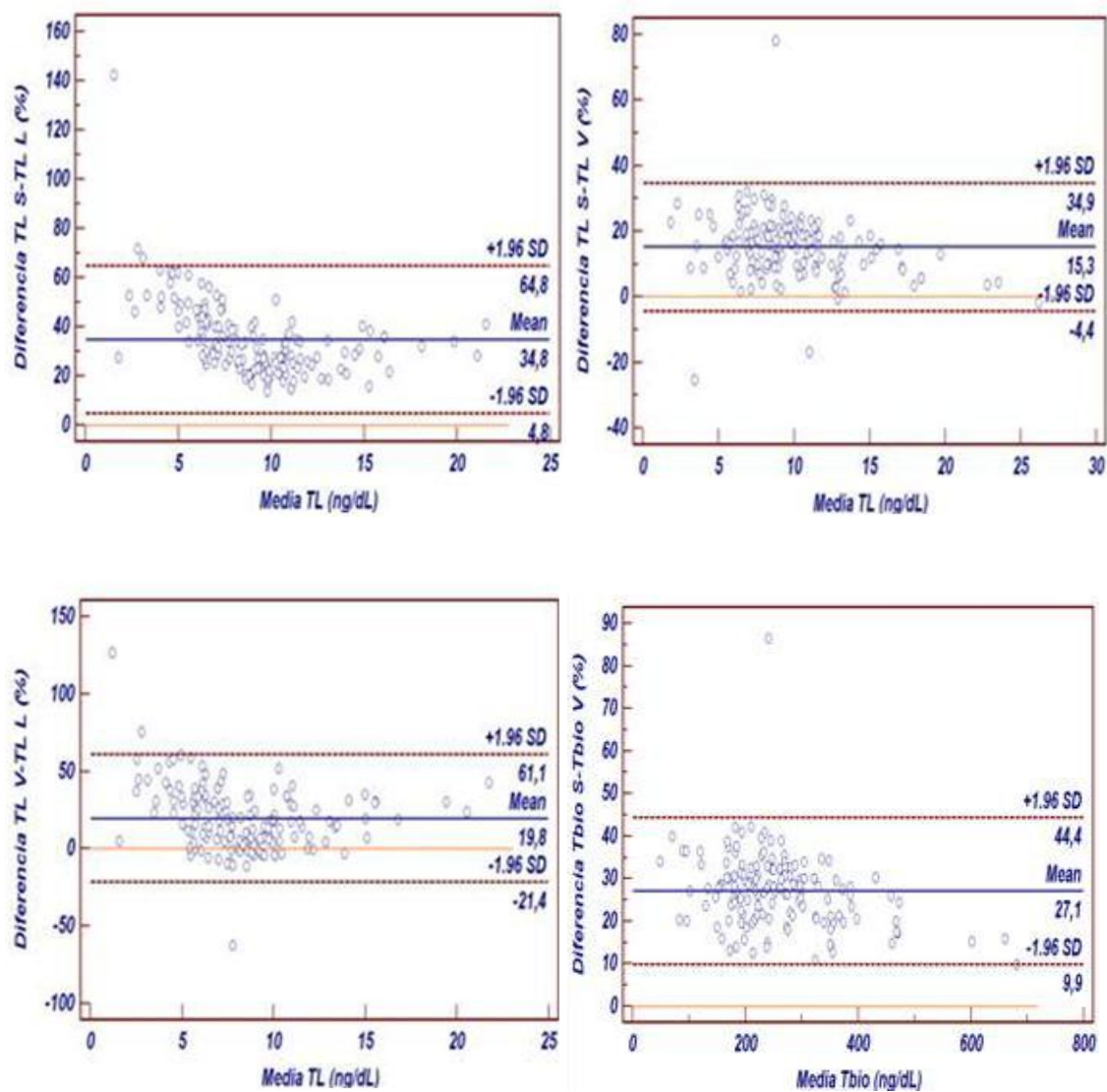
Figura I-Gráficos comparativos para las distintas fórmulas de cálculo de TL y Tbio en mujeres.

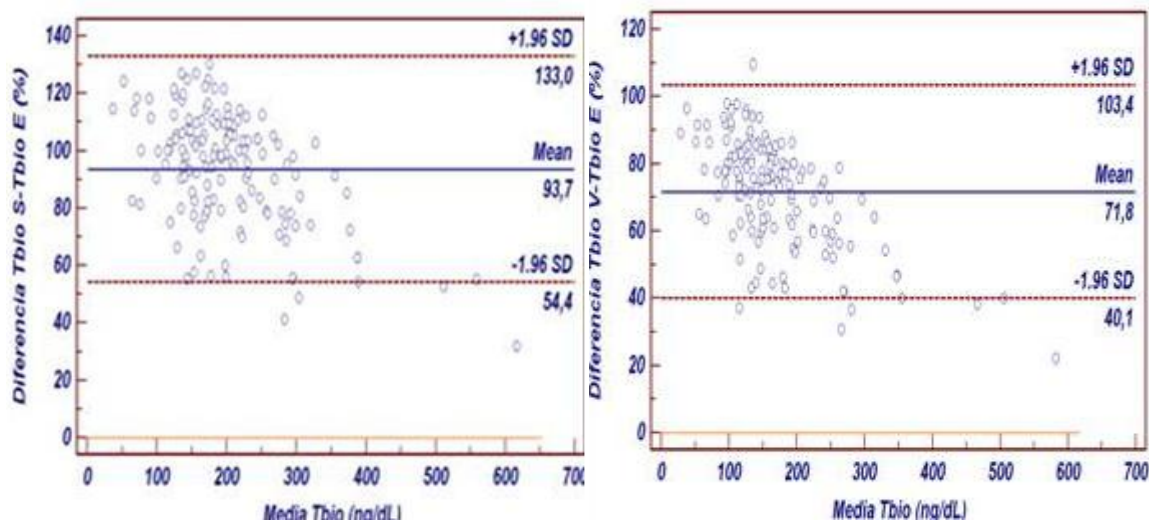




Porcentaje de la diferencia de los valores de TL y Tbío versus media de TL y Tbío para cada par de valores que se obtienen por dos fórmulas distintas. Las líneas sólidas de color azul representan la media de ese porcentaje; las líneas de puntos de color marrón indican 1,96 x desvío estándar de esa media; la línea de puntos de color naranja indica el 0%.

Figura II-Gráficos comparativos para las distintas fórmulas de cálculo de TL y Tbío en hombres.



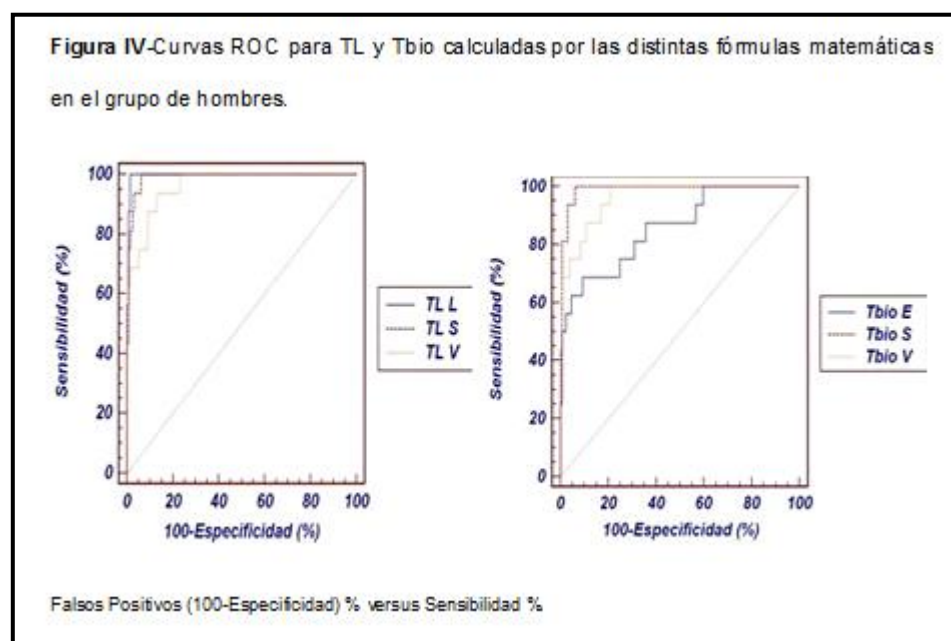
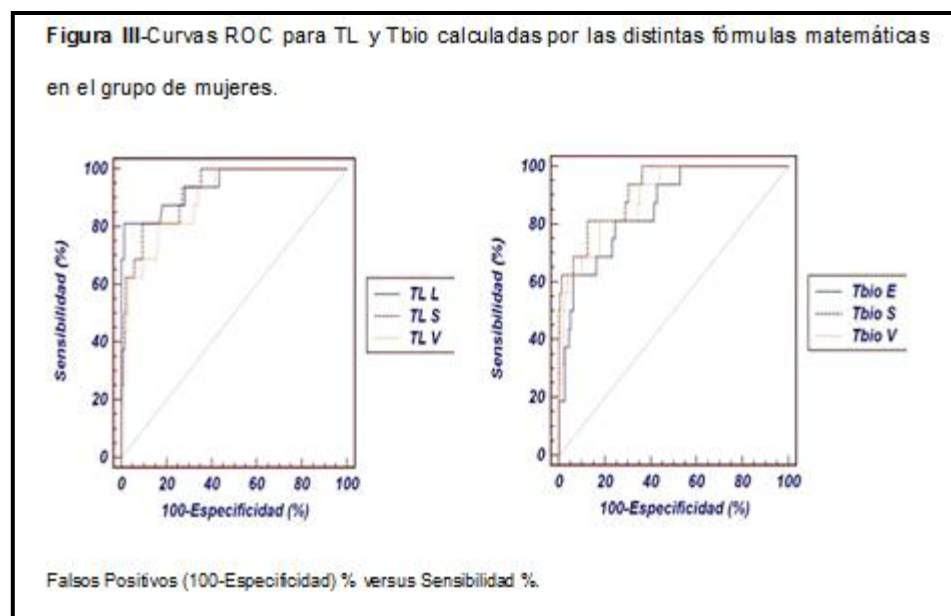


Porcentaje de la diferencia de los valores de TL y Tbio versus media de TL y Tbio para cada par de valores que se obtienen por dos fórmulas distintas. Las líneas sólidas de color azul representan la media de ese porcentaje, las líneas de puntos de color marrón indican 1,96 x desvío estándar de esa media, la línea de puntos de color naranja indica el 0%.

Del análisis comparativo entre las distintas fórmulas, los valores de TL y Tbio que arroja la fórmula de Sodergard en ambos grupos son superiores a los obtenidos por los cálculos de Vermeulen, Ly y Emadi-Konjin. Las mayores diferencias se observan en el grupo de mujeres, donde los valores de TL S son superiores en un 47,3% a los de TL L y los valores de Tblio S son superiores en un 120,8% a los de Tblio E. Del mismo análisis, se puede inferir que en el grupo de hombres se observan menores diferencias, ya que los valores de TL S son superiores en un 15,3% a los de TL V y los valores de Tblio S son superiores en un 39% a los de Tblio V.

Se construyeron curvas ROC para evaluar la sensibilidad y la especificidad que presenta cada fórmula en el diagnóstico bioquímico de hiperandrogenemia en el grupo de mujeres e hipogonadismo en el grupo de hombres (Figuras III y IV). Se utilizó como criterio diagnóstico de hiperandrogenemia bioquímica en mujeres una TT > 60 ng/dL, que corresponde al límite superior de los valores de referencia del laboratorio; y para

diagnóstico de hipogonadismo bioquímico en hombres una TT < 280 ng/dL, que corresponde al límite inferior de los valores de referencia del laboratorio (14, 15).



Al analizar las áreas bajo la curva (ABC), se pudo determinar que todas las fórmulas estudiadas presentaron un aceptable desempeño para el diagnóstico bioquímico de hiperandrogenemia en mujeres e hipogonadismo en hombres. En ambos grupos el cálculo

para Tbio que arrojó la menor ABC fue Tbio E con un valor de 0,86 (IC 95% 0,80-0,90) en mujeres y de 0,86 (IC 95% 0,79-0,91) en hombres, Tbio S resultó tener la mayor ABC con un valor de 0,92 (IC 95% 0,87–0,96) en mujeres y de 0,99 (IC 95% 0,96-1,00) en hombres. Para TL la de menor ABC fue TL V con un valor de 0,90 (IC 95% 0,84–0,94) en mujeres y de 0,96 (IC 95% 0,91-0,99) en hombres y la de mayor ABC fue TL L con un valor de 0,94 (IC 95% 0,90–0,97) en mujeres y de 0,99 (0,97-1,00).

En el grupo de mujeres, para valores de TL se encontró que la fórmula de Ly en el punto de corte de 0,78 ng/dL fue la de mayor sensibilidad (81,25%) y especificidad (98,74%) con una razón de verosimilitud positiva (LR+) de 64,59 y una razón de verosimilitud negativa (LR-) de 0,19; para valores de Tbio se observó que la fórmula de Sodergard en el punto de corte de 25,23 ng/dL fue la de mayor sensibilidad (81,25%) y especificidad (87,42%) con LR+ de 6,46 y LR- de 0,21.

En el grupo de hombres, para valores de TL se observó que la fórmula de Ly en el punto de corte de 3,84 ng/dL fue la de mayor sensibilidad (100%) y especificidad (98,45%) con LR+ de 64,50 y LR- 0,00; para valores de Tbio se encontró que la fórmula de Sodergard en el punto de corte de 196,14 ng/dL fue la de mayor sensibilidad (100%) y especificidad (93,80%) con LR+ de 16,12 y LR- de 0,00.

Discusión

Las fórmulas presentadas por Vermeulen, Sodergard y Emadi-Konjin se basan en dos ecuaciones matemáticas, una para obtener los valores de TL y otra para los valores de Tbio, las cuales sólo difieren en las constantes de afinidad por la T. Estas fórmulas se desarrollaron bajo el principio de la ley de acción de masas y utilizan las concentraciones de TT, SHBG y albúmina. En este trabajo se demostró que las fórmulas arrojaron valores de TL y Tbio diferentes ($p < 0,05$) para un mismo valor de TT, SHBG y albúmina (Tablas 1

y 2). Las discrepancias se atribuyen a los diferentes valores de k_t y k_a utilizados por cada autor, ya que se ha demostrado que las variaciones de albúmina dentro de límites fisiológicos no modificarían los cálculos de TL y Tbio (8,16), y nuestros resultados demuestran que a niveles más elevados de k_t se observa una mayor unión de T a la proteína y por lo tanto una menor fracción TL y Tbio.

Ly y col. (12) tuvieron otro enfoque para desarrollar sus ecuaciones matemáticas, ellos reconocieron que la relación entre la TL con la TT y la SHBG es de tipo no lineal. De este modo desarrollaron, mediante regresión múltiple, dos ecuaciones de predicción matemática para calcular TL. Midieron aproximadamente 4000 muestras en las que determinaron TT, SHBG y TL con la técnica de ultrafiltración (UF). Una de las ecuaciones se utiliza para valores de TT > 144 ng/dL y la otra se utiliza para valores de TT < 144 ng/dL. Resulta interesante destacar que en el presente trabajo las dos ecuaciones de Ly para calcular TL son las que presentaron mayor correlación ($p < 0,05$) con la TT (Tablas 3 y 4). La ecuación para TT < 144 ng/dL, que cubre el rango fisiológico de TT en mujeres, es la que mostró una menor correlación con la SHBG, siendo menos sensible a las variaciones en las concentraciones de esta proteína, mientras que le otorga a la variable TT un mayor peso en el cálculo de TL. (Tabla 3).

En hombres se pudo demostrar que la correlación entre TL y Tbio con la SHBG es muy débil o nula, debido principalmente a que la relación entre las variables TT y SHBG no es lineal a lo largo de todo el rango fisiológico de T en este grupo, si bien ambas se comportan como variables independientes, la falta de correlación se magnifica en todas las fórmulas por el comportamiento cuadrático de las mismas. (Tabla 4).

Utilizando los gráficos propuestos por Bland-Altman (Figuras I y II) se concluye que las fórmulas para calcular TL y Tbio, no deberían ser utilizadas sin una evaluación previa,

debido a las diferencias encontradas. Del análisis comparativo realizado entre las distintas fórmulas se puede concluir que las estimaciones de TL y Tbio calculadas con las fórmulas de Sodergard y Vermeulen tienen un “bias” positivo tanto en la población de hombres como en la población de mujeres. Estos resultados también son sustentados por otros trabajos de validación de métodos, donde la medición de TL por técnicas de referencia arroja resultados menores a los calculados por la fórmula de Vermeulen (6, 8,17). En este sentido Ly y col (12) compararon los cálculos de Sodergard y Vermeulen con la técnica de UF demostrando que ambas fórmulas sobreestimaban las concentraciones de TL. En el presente trabajo demostramos que los valores de TL que arrojan las ecuaciones de Ly son menores a los de Sodergard y Vermeulen (Tablas 1 y 2).

Emadi-Konjin y col. para desarrollar su fórmula de cálculo para Tbio compararon mediciones realizadas por el método de referencia y las calculadas por la fórmula de Vermeulen. Debido a la sobreestimación encontrada en los valores de Tbio por la fórmula de Vermeulen, modificaron los valores de k_t y k_a para obtener la máxima correlación con la técnica de precipitación informando con esta nueva fórmula un $r = 0.95$ (10). Nosotros también observamos que los valores de Tbio que arroja la ecuación de Emadi-Konjin son menores a los de Sodergard y Vermeulen, mostrando la mayor correlación negativa con la SHBG (Tablas 3 y 4).

Como se mencionó anteriormente, las fórmulas utilizan los valores medidos de TT, SHBG y albúmina. Se debe tener en cuenta que los errores asociados a sus mediciones repercuten directamente en el cálculo de TL y Tbio. En cuanto a los errores metodológicos, para la medición de TT, varias publicaciones afirman que con valores de $TT < 230$ ng/dL, los inmunoensayos pueden sobreestimar de dos a cinco veces los valores obtenidos por EM-CG/DI (18). Más aún, Wang y col. al comparar seis inmunoensayos con cromatografía líquida / espectrometría de masa en tándem (CL/EM-

EM) afirman que los valores de TT < 150 ng/dL obtenidos por inmunoensayos no tienen utilidad clínica ni analítica (19). Por otro lado, las metodologías disponibles para TT y SHBG no cuentan con un estándar internacional, motivo por el cual los valores medidos no son trazables (20). Finalmente, en cuanto a los errores en la etapa pre-analítica, en los valores de TT y SHBG, se debe considerar que la TT tiene una secreción diurna y pulsátil, por tal motivo la muestra de suero no debe ser extraída fuera del horario expresado; la SHBG debe determinarse en muestras de suero y no en plasma ya que los anticoagulantes disminuyen su concentración (21) y también se deben considerar las variaciones de la SHBG en distintas circunstancias fisiológicas como embarazo, dieta, edad, sexo, IMC y en diferentes estados patológicos como síndrome de ovario poliquístico (SOP), síndrome metabólico, patología tiroidea, elevación de citoquinas proinflamatorias y el uso de ciertas drogas como el tamoxifeno, fitoestrógenos, mitotano (3,22).

Conclusión

La Sociedad Americana de Endocrinología (23), establece que las fórmulas para TL y Tbio tienen principal utilidad diagnóstica en dos situaciones clínicas: el diagnóstico de SOP en mujeres (24) e hipogonadismo en hombres (21,25). En el presente trabajo se determina que en estas dos situaciones bioquímicas, el desempeño de todas las fórmulas analizadas fue aceptable en términos de sensibilidad y especificidad diagnóstica, si bien para los valores de TL, la fórmula de Ly sería la que mejor clasifica a estos pacientes y para los valores de Tbio, lo sería la fórmula de Sodergard.

Para la correcta interpretación de los valores de TL y Tbio que arrojan las fórmulas analizadas en este trabajo, es necesaria una evaluación del cumplimiento de los requisitos pre-analíticos y del contexto clínico del paciente, además de los valores de TT,

SHBG y albúmina. Es fundamental que cada laboratorio establezca los valores de referencia con la respectiva metodología empleada, tanto para TT y SHBG como para los cálculos de TL y Tbio, minimizando así los errores metodológicos. El análisis bioquímico del perfil androgénico debe realizarse en forma integral debiendo tenerse en consideración todas las fuentes de variación mencionadas con anterioridad.

Bibliografía

1. Fax JD. Principles and pitfalls of free hormone measurements. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 27: 631-645.
2. Dunn JF, Nisula BC and 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.
3. Simó R, Sáez López C, Barbosa Desongles A, Hernández C and Selva DM. Novel insights in SHBG regulation and clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 103: 1-8.
4. Hammes A, Willnow TE, et al. Role of endocytosis in cellular uptake of sex steroids. *J Cell* 2005; 122: 751-762.
5. Tremblay RR and Dube JI. Plasma concentrations of free and non-TeBG-bound testosterone in women on oral contraceptives. *Contraception* 1974; 10: 599-605.
6. Miller KK, Rosner W, Lee H, Hier J, Sesmillo G, Schoenfeld D, Neubauer G and Klibanski A. Measurement of free testosterone in normal women and women with androgen deficiency: comparison of methods. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 525-533.
7. Van Uytendanghe K, Stöckl D, Kaufman JM, Fiers T, Ross HA, De Leenheer AP and 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; 11: 2101-2110.
8. 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: 3666-3672.

9. 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.
10. Emadi-Konjin P, Bromberg IL. Evaluation of an algorithm for calculation of serum "bioavailable" testosterone (BAT). *Clin Biochem* 2003; 36: 591-596.
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: 241-249.
12. Ly LP, Handelsman DJ. Empirical estimation of free testosterone from testosterone and sex hormone-binding globulin immunoassays. *Eur J Endocrinol* 2005; 152: 471-472.
13. Bland JM, Altman DG. Comparing methods of measurement: why plotting difference against standard method is misleading. *Lancet* 1995; 346: 1085-1087.
14. Chang WY, Knochenhauer ES, Bartolucci AA and Azziz R. Phenotypic spectrum of polycystic ovary syndrome: clinical and biochemical characterization of the three major clinical subgroups. *Fertility and Sterility* 2005; 83: 1717-1723.
15. Vermeulen A. Diagnosis of partial androgen deficiency in the aging male. *Ann, Endocrinol* 2003; 64: 109-114.
16. Mueller A, Cupisti S, Binder H, Hoffmann H, Beckmann MW and Dittrich R. The role of albumin in the calculation of free and bioavailable testosterone in women with hyperandrogenemia. *In Vivo* 2006; 20: 403-408.
17. Rinaldi S, Geay A, Dechaud H, Biessy C, Zeleniuch-Jacquotte, Akhmedkhanov A, Shore RE, Riboli E, Toniolo P and Kaaks R. Validity of free testosterone and free estradiol determinations in serum samples from postmenopausal women by theoretical calculations. *Cancer Epidemiol. Biomarkers* 2002; 11: 1065-1071.

18. Taieb J, Mathian B, Millot F, Patricot MC, Mathieu E, Queyrel N, Lacroix I, Delpero CS and Boudou P. Testosterone measured by 10 immunoassays and by isotope-dilution gas chromatography-mass spectrometry in sera from 116 men, women and children. *Clinical Chemistry* 2003; 49: 1381-1395.
19. Wang C, Catlin DH, Demers LM, Starcevic B and Swerdloff RS. Measurement of total serum testosterone in adult men: comparison of current laboratory methods versus liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 89: 534-543.
20. Vesper HW, Botelho JC, Shacklagy C, Smith A and Myers GL. CDC project on standardizing steroid hormone measurements. *Steroids* 2008; 73: 1286-1292.
21. Vermeulen A. Diagnosis of partial androgen Deficiency in the aging male. *Ann, Endocrinol* 2003; 64: 109-114.
22. Pugeat M, Nader N, Hogeveen K, Raverot G, Déchaud H and Grenot C. Sex hormone-binding globuline gene expression in the liver: drugs and the metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 316: 53-59.
23. Rosner W, Auchus RJ, Azziz R, Sluss PM and Raff H. Position Statement: Utility, Limitations, and Pitfalls in Measuring Testosterone: An Endocrine Society Position Statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 406-413.
24. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Kandakaris ED, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, Janssen OE, Legro RS, Norman RJ, Taylor AE and Witchel SF. Positions Statement: Criteria for Defining Polycystic Ovary Syndrome as a Predominantly Hiperandrogenic Syndrome: An Androgen Excess Society Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 4237-4245.

25. Kacker R, Hornstein A and Morgentaler A. Free testosterone by direct and calculated measurement versus equilibrium dialysis in a clinical population. *Aging male* 2013; 16: 164-168.