

男性随意尿 LH、FSH 和睾酮的测定

——一种观察垂体—睾丸功能的简易放免方法

叶尚勉 刘光英

(四川省计划生育科研所,成都)

用放射免疫方法 (RIA) 测定血清或血浆中 LH、FSH 和睾酮的含量已经成为观察男性垂体—睾丸功能变化的一个重要手段。但血样采集有损人体而不易被人接受;特别是需要连续采样时倍感困难。此外,由于这些生殖激素本身的生理波动,仅仅测定一次血样并不能完全反映其变化的真实状况。因此,寻找一种简单且能替代血清测定的方法对临床诊断和治疗将会大有帮助。

尿液易采集,而且测定尿液中 LH、FSH 和睾酮的变化有可能得到与测定血清相近的资料。Baghdassarian 等人就曾发现 24 小时尿中 LH 和 FSH 与血清中的这两种激素变化平行^[1]。测定 24 小时尿中葡萄糖醛酸睾酮也可用以观察睾丸功能的变化^[2,3]。然而收集 24 小时尿液仍非简而易行,并且测定葡萄糖醛酸睾酮需要的特殊药盒不易得。为此,本研究用放射免疫方法同时测定男性血清和随意尿样品中 LH、FSH

和睾酮的浓度;然后将尿样品中激素值用尿样品的肌酐含量予以校正;观察尿激素/肌酐比率是否与血清激素变化相关;试图建立一种简单易行且能替代血清测定的方法。

材 料 和 方 法

1. 血和尿样品的收集 同时采集 93 名年龄 17—70 岁男性随意血和尿样品各一份。采集时间从上午九点到下午两点不等。采集后立即放在-20℃贮存,供测定。

2. 试剂和仪器 除活性碳外, LH、FSH 和睾酮的测定均使用 1985 年世界卫生组织提供的放免测定配套药盒,并使用世界卫生组织按月提供的新鲜 ¹²⁵I-LH 和 ¹²⁵I-FSH。活性碳 (AR)、配制磷酸缓冲液 (PBS) 的试剂,乙醚 (AR)、配制闪烁液的试剂、聚乙二醇 6000 以及测定尿肌酐的试剂分别购自成都、广东和上海化学试剂厂。肌酐标准品则购自四川医学

冻干燥。现改用水溶液 -40℃ 保存,可使用三个月,在-10℃也可用一周,方法简便易行。

三、ATP 的减少可能是由于削弱了酶底物的利用 Larsson Hultman, 1979 年观察到了人大腿肌肉组织在缺血期间 ATP 有显著下降,与我们测定的实验性失血性家兔肌肉 ATP 变化结果一致^[4]。

thods of Enzymatic Analysis, (ed. by Bergmeyer, H. U.), P551, Academic Press, New York and London, 1963.

[2] Lowry, O. H. et al.: *J. Biochem.*, **239**, 18, 1964.

[3] Gallagher, J. F.: *Surg. Forum.*, **28**, 19, 1977.

[4] Larsson, I. et al. *Acta Chem. Scand.*, **150**, 511, 1984.

[5] 彭洪福:《军队卫生研究资料汇编》,176 页,军事医学科学院军队卫生研究所情报资料组编印,1979。

参 考 文 献

[本文于 1985 年 9 月 9 日收到]

[1] Paul, G.: *Determination by Fluorimetry Me-*

院。

西安 262 厂出产的 FJ-2101 型液闪仪用于睾酮测定, FJ-2008Γ 仪则用于 LH 和 FSH 的测定。上海分析仪器厂的 751G 分光光度计用于尿肌酐测定。

3. 血清 LH、FSH 和睾酮的放免测定

LH 和 FSH 的测定按照 1985 年世界卫生组织操作手册, 改用在 4℃ 仅孵化 24 小时后, 加含 8% 聚乙二醇的 1:20 驴抗兔血清, 4℃ 保温 2 小时即离心分离的方法^[4]。睾酮的测定采用 Aso 的方法^[5], 但保温孵化仍在 4℃, 24 小时。

4. 尿液 LH、FSH 和睾酮的放免测定

冷冻的尿样品在室温下溶解后仔细混匀。对 LH 的测定直接取 50μl (×2) 尿液, FSH 取 200μl (×2) 尿液, 睾酮则取 100μl (×2) 加 2 ml 新鲜纯化乙醚抽提, 然后均按测定血清的方法测定。

5. 尿肌酐的测定 采用 Jatfelts 法^[6], 但尿样品量以及各试剂量均减小 10 倍。

6. 统计学分析 为确定血清和尿液激素水平的相互关系, 以及血和尿激素随年龄变化的相互关系, 采用直线回归方法^[7]。假定回归方程为 $y = a + bx$, 其中 y 为血清激素值, x 为尿激素/肌酐比率, a 为回归方程截距, b 为回归方程的斜率。

结 果

1. 血清 LH、FSH 和睾酮的测定 各质量指标均符合世界卫生组织操作手册的要求^[8]。其结果显示 LH 和 FSH 随年龄增长而增高, 睾酮在 21—70 岁年龄组随年龄未见明显变化(图4)。

2. 尿液 LH、FSH 和睾酮放免测定的可

靠性

敏感性 LH、FSH 和睾酮标准曲线 (logit B/B₀ 对 log 剂量) 范围分别为 1.56~50U/测定管, 1.25~40U/测定管和 27.5~880fmol/测定管。最小可测定值分别为 1.56U、1.25U 和 27.5fmol。^[9]

准确性 尿液放免测定的准确性用下述方法评价: LH、FSH 和睾酮标准品分别加入一尿液池中, 然后用 PBS 连续成倍稀释。以加入尿液中激素为横轴 (log x), 以测得稀释尿液激素量为纵轴 (logit y) 作直线回归分析, 得到了和标准曲线平行的回归曲线和很好的相关系数 (表 1)^[9,10]。

精确性 尿液放免测定的批内、批间误差亦见表 1。

特异性 LH、FSH 和睾酮抗血清与其它生殖激素的交叉反应参见参考文献[4]。

3. 血、尿激素水平的相互关系 随意尿样品的 LH、FSH 和睾酮值与同时采集的血样中的这些生殖激素水平具显著的相关关系; 尿中激素值经用尿样品肌酐含量校正后, 以尿激素/肌酐比率表示, 其相关系数则有所提高(表 2)。图 1、2、3 分别显示尿 LH/肌酐, 尿 FSH/肌酐和尿睾酮/肌酐与血清 LH、FSH 和睾酮的相关关系。相关系数(r)分别为 0.640、0.602 和 0.438, p 值均小于 0.001, 具极显著性意义。回归方程分别为 $y = 2.9578 + 0.1187x$, $y = 1.6016 + 0.1948x$ 和 $y = 13.4500 + 1.7925x$; 标准估计误差分别为 2.53IU/L、1.58IU/L 和 6.56nmol/L。

4. 血、尿生殖激素随年龄变化时的相关关系 图 4 显示随年龄增长, 尿 LH/肌酐和尿 FSH/肌酐比率和血清 LH 和 FSH 浓度一样随

表 1 尿液放免测定的精确性和准确性

激素	批内误差 CV%	批间误差 CV%	准 确 性	回收率%
LH	2.96	5.96	$y = 3.16 - 2.15x$ $r = -0.999$	94.2±10.8
FSH	8.05	13.69	$y = 2.55 - 2.21x$ $r = -0.991$	
睾酮	8.96	8.73	$y = 2.92 - 1.93x$ $r = -0.993$	

表 2 尿肌酐校正对血、尿激素相关系数的影响

激素	未经校正的 r	p	校正后的 r	p
LH	0.396	<0.001	0.640	<0.001
FSH	0.489	<0.001	0.602	<0.001
睾酮	0.244	<0.05	0.438	<0.001

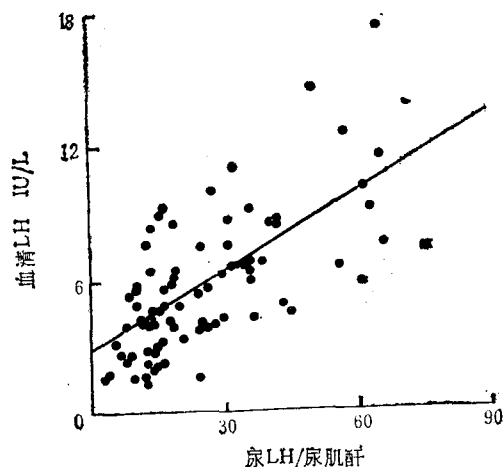


图 1 尿 LH/尿肌酐比率与血清 LH 相关关系
($n = 84$)

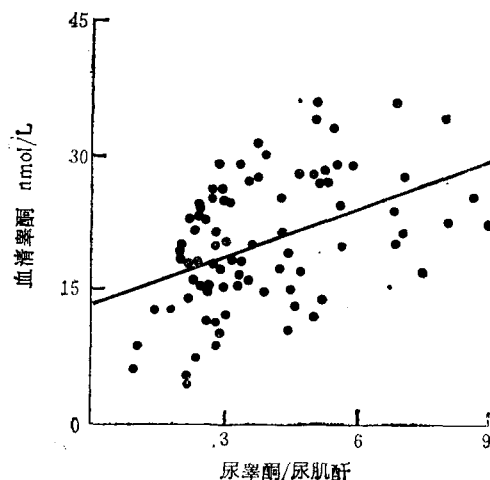


图 3 尿睾酮/尿肌酐比率与血清睾酮相关关系
($n = 86$)

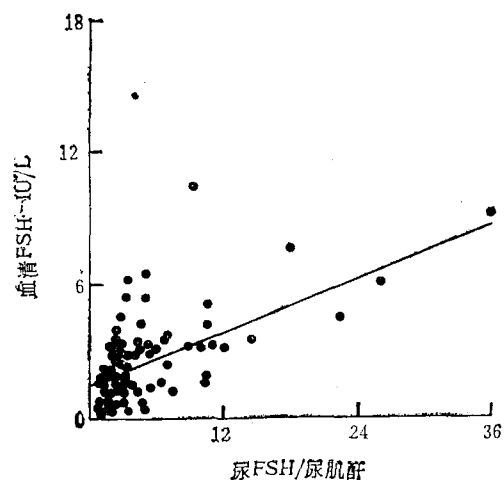


图 2 尿 FSH/尿肌酐比率与血清 FSH 相关关系
($n = 79$)

0.992, $p < 0.01$ (FSH) 和 $y = 0.8890x - 14.2340$, $r = 0.954$, $p < 0.01$ (睾酮)。

5. 按回归方程从尿激素/肌酐比率估计血清激素值与实际测定值的比较 在经回归分析尿激素/肌酐比率与血清激素相关关系后,有 7

表 3 按回归方程从尿 LH/尿肌酐比率估计血清 LH 值与实际测定值的比较

受试者	尿 LH/尿肌酐	估计血清值和血清值范围	实测值
1	83.17	12.83 (10.30—15.36)	14.29
2	8.65	3.98 (1.45—6.51)	2.12
3	4.36	3.47 (0.94—6.00)	2.81
4	21.45	5.50 (2.97—8.03)	5.53
5	10.55	4.21 (1.68—6.74)	3.52
6	13.65	4.58 (2.05—7.11)	4.45
7	11.92	4.34 (1.84—6.90)	6.97

估计血清值范围是估计血清值±标准估计误差

之增高;而尿睾酮/肌酐比率也和血清睾酮一样在 21—70 岁随年龄增长无明显变化。血清激素与尿激素/肌酐比率随年龄变化时相关回归分析分别为 $y = 4.2650x - 0.3010$, $r = 0.908$, $p < 0.05$ (LH); $y = 1.2370x - 0.0640$, $r =$

表 4 按回归方程从尿 FSH/尿肌酐比率估计血清 FSH 值和实际测定值的比较

受试者	尿 FSH/尿肌酐	估计血清值和估计血清值范围	实测值
1	1.65	1.92 (0.35—3.49)	1.88
2	0.32	1.66 (0.09—3.23)	1.49
3	7.53	3.07 (1.50—4.64)	3.78
4	1.26	1.85 (0.28—3.42)	2.54
5	3.17	2.22 (0.65—3.79)	2.71
6	2.24	2.04 (0.47—3.61)	2.83
7	2.76	2.14 (0.57—3.71)	4.14

估计血清值范围是估计血清值±标准估计误差

表 5 按回归方程从尿睾酮/尿肌酐比率估计血清睾酮值与实际测定值的比较

受试者	尿睾酮/尿肌酐	估计血清值和估计血清值范围	实测值
1	2.60	18.10 (11.54—24.66)	23.17
2	1.57	16.27 (9.71—22.83)	17.78
3	1.66	16.42 (9.86—22.98)	20.23
4	4.32	21.17 (14.63—27.75)	17.91
5	1.73	16.55 (9.99—23.11)	23.12
6	2.91	18.66 (12.10—25.22)	18.07

估计血清值范围是估计血清值±标准估计误差

对样品,我们先测定其尿样品中的激素含量,从回归方程推算其血清激素的估计值和估计值范围,再测定其血清值(1例血清不足未能测定睾酮)和估计值比较,结果列于表 3、4 和 5。

讨 论

Raiti 和 Blizzard^[11], Baghdassarian 等^[1]以及 Edward 等^[12]报道,尿液先经乙醇或丙酮处理后,再测定其 LH 和 FSH 的放免方法,显然较复杂而且费时。而采用本研究中的直接测定方法,既简单易行,又敏感、准确和特异;测定的精确度亦都能符合标准^[8]。

儿童青春期发育时其 24 小时尿液 LH 或

FSH 排泄量随之逐渐增加^[1,13,14]。Baghdassarian 等人还同时发现 24 小时尿液里 LH 与血清 LH 浓度具显著相关关系^[1]。因而认为测定尿中 LH 可作为临床诊断和治疗有用的手段,但均须收集 24 小时的尿液。因为每日尿液中肌酐排出量是相当衡定的,随意尿样品中的肌酐浓度必然同每次尿量的多少成正比,而随意尿样品中的激素含量亦因每次尿量变化而不同。所以用尿激素/肌酐比率表示则可消除每次排尿量变化的影响。最近 Barker^[15]和 Stanczyk^[16]等在测定尿液雌激素和孕激素代谢产物的研究中报道就采用尿激素/肌酐比率表示而避免 24 小时尿液的收集。并且当用这种方式表示时还发现 16- α -葡萄糖苷酸雌二醇在黄体期有间歇性排泄的现象,而以 24 小时尿液测定就掩盖了这种现象。在本研究中采用测定随意尿样品并以尿激素/肌酐比率表示的方法,从所得结果来看:首先仅测定随意尿样品 LH 和 FSH 便得到了

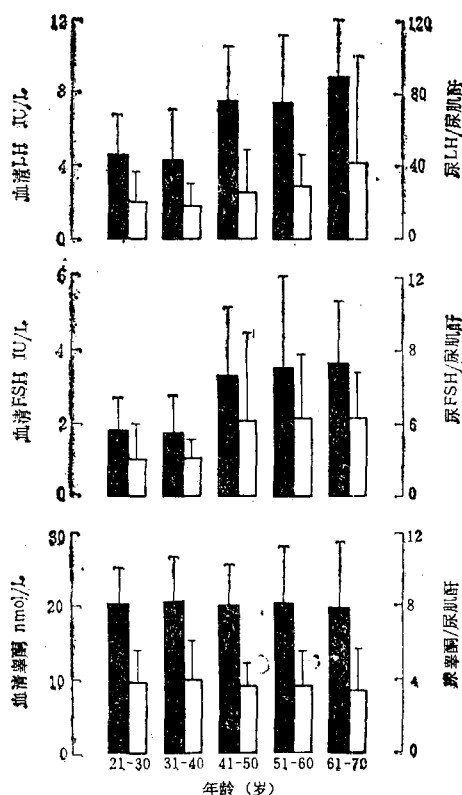


图 4 血清激素和尿激素/尿肌酐比率随年龄变化时的相关关系

和血清 LH 和 FSH 变化显著相关的结果 (表 3); 如以尿激素/肌酐比率表示, 其相关系数便大有改善 (表 3、图 1, 2)。其次, 当用尿激素/肌酐比率表示时, 尿 LH 和 FSH 和血清 LH 和 FSH 一样随年龄增长而增高^[17]。(图 4) 再则, 在回归分析血清 LH 和 FSH 与尿激素/肌酐后, 将另 7 例受试者的尿 LH 和 FSH 值按回归方程估计其血清值, 再与实际测得值相比较, 实测值和估计值十分接近 (表 3 和表 4)。

测定尿中葡萄糖醛酸睾酮可观察睾丸功能^[2, 3]。但所需特殊试剂国内不易购得。而在本研究中采用测定尿中“游离”睾酮, 再以尿睾酮/肌酐比率表示的方法, 除可看到血、尿睾酮相关系数可大大改善外 (表 3 和图 3), 从图 4 还可看到在 21—70 岁尿睾酮变化与血清睾酮变化平行。按回归方程估计 6 例血清值也和实测值相接近 (表 5)。

因此, 可以认为本研究所建立测定尿中 LH、FSH 和睾酮的方法, 不仅简单易行, 且能反映血清 LH、FSH 和睾酮的变化, 在临床诊断和治疗, 特别在需要连续多次观察时可能成为一种有用的方法。

但在本研究中, 血、尿激素相关系数仍不够理想, 因而按回归方程估计血清值和实测值有一定误差, 这可能与所能利用的样品较少有关。血清睾酮在 21—70 岁无明显变化与本试验室以前的发现以及某些报道的结果一致^[18-20]。

参 考 文 献

[1] Baghdassarian, A. et al: *J. Clin. Endocr.* 31:

- 428, 1970.
- [2] Hedinger, CHR. et al: In *Clinical Endocrinology, Theory and Practice* (ed. Labhart, A.), Springer-Verlag Berlin, pp 384, 1974.
- [3] Bardin, C. W and Paulsen, C. A.: In *Textbook of Endocrinology* (6 edition, ed. Willians, R. H.), Saunder Comp. pp 316, 1981.
- [4] Suffi S. B. et al: *WHO Method Manual, Programme for the Provision of Matched Assay Reagents for the Radioimmunoassay of Hormones in Reproductive Physiology*, pp 24 and pp 34, 1985.
- [5] Aso, T. et al: *Clin Endocrinol (Oxf.)* 4: 173, 1975.
- [6] 瞿淑芬等:《临床生化检验》, 四川医学院附属医院, 中心实验室检验科编, pp 259, 1985.
- [7] 上海第一医学院卫生统计教研组:《医学统计方法》, pp 72, 1979.
- [8] 肖碧莲等:《生殖与避孕》, 4 卷: 51 页, 1984.
- [9] Brenner, P. F. et al: *Steroids*, 22: 775, 1973.
- [10] Cekan, S.: *Acta Univ. Uppsala*, 14, 1976.
- [11] Raiti, S. and Blizzard, R. M.: *J. Clin. Endocr.*, 28: 1719, 1968.
- [12] Edward, O. et al: *J. Clin. Endocr. Metab.*, 36: 661, 1973.
- [13] Bpvkler, J. M. H. and Clayton, B. E.: *Archiv. Dis. Childh.*, 45: 478, 1970.
- [14] Wauler, P. E. et al: *Acta Paediatrica Scandinavica*, Suppl. 249, 1974.
- [15] Baker, T. S. et al: *Biochem. J.*, 177: 729, 1979.
- [16] Stanczyk, F. Z. et al: *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 131: 443, 1980.
- [17] Kretser, de et al: In *The Pituitary and Testis, Clinical and Experimental Studies*, Springer Verlag Berlin, pp 77, 1983.
- [18] 彭宪生等:《生物化学杂志》, 1 卷: 87 页, 1985.
- [19] Vermeulen, A. et al: *J. Clin. Endocr. Metab.*, 33: 709, 1971.
- [20] ————: *ibid.*, 34: 370, 1972.

[本文于 1986 年 1 月 31 日收到]