

Sensitive estimations of pituitary glycoprotein hormones : clinical and scientific applications

Citation for published version (APA):

Menheere, P. P. C. A. (1989). *Sensitive estimations of pituitary glycoprotein hormones : clinical and scientific applications*. Rijksuniversiteit Limburg.

Document status and date:

Published: 01/01/1989

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

In this thesis the features of sensitive estimations of pituitary glycoprotein hormones are described, together with some clinical and scientific applications.

After a general introduction, the first chapter deals with the important role of hormones in the regulation of many metabolic processes. The central role of the pituitary as a controller in many endocrine processes is discussed. Influenced by higher brain centres such as the hypothalamus, pituitary hormones are secreted into the bloodstream through which they are transported to the specific target organs where the hormone activity is displayed. Thyroid stimulating hormone (TSH) is one of these pituitary glycoproteins. It stimulates the thyroid into production and secretion of thyroid hormones: thyroxine (T₄) and triiodothyronine (T₃). Another pituitary glycoprotein is the luteinizing hormone (LH). It is responsible for the process of ovulation in women and for the stimulation of Leydig cells leading to the production of testosterone in men. A negative feedback system exists, meaning that an increased concentration of target organ hormones (such as hormones of the thyroid, the ovaries and the testes) inhibits the production and secretion of the stimulating hormones such as TSH and LH. Even very small quantities of glycoprotein hormones are sufficient to stimulate target organs. In order to measure the pituitary glycoprotein concentrations in the plasma, ultra sensitive methods for determination are required. The radioimmunoassays generally used (RIA techniques, until 1984) were quite adequate for measuring normal or elevated concentrations of stimulating hormones but decreased values could not be measured with any accuracy. However, measurement of decreased values now appears to be quite important in the study of endocrine pathophysiology.

In chapter 2, a description is given of ultrasensitive immunoradiometric assays (IRMA techniques, available since 1984). By application of these IRMA methods, detection limits 10 to 50 times lower than those for RIA methods can be reached. In this chapter the theoretical background of these improved methods and their inherent pitfalls are discussed. It has also been pointed out that perhaps even lower detection limits could be reached using other labels than the generally available ¹²⁵I. The studies in this thesis, however, have been performed using ¹²⁵Iodine-labelled tracers. Commercially available reagents have been compared both for TSH and LH estimations, hitherto the only available ultrasensitive procedures, and the analytical accuracy and precision have been determined.

Some clinical applications of the ultrasensitive TSH determinations have been described in chapter 3. A number of publications have appeared indicating the possibilities of IRMA-TSH for the measurement of decreased concentrations such as found in hypothyroidism. The IRMA-TSH determination is now very important in the diagnosis of thyroid hormone abnormalities. Moreover, there is now the possibility of following even very small concentration changes, which could not be distinguished using the earlier RIA techniques but were lost in the bias of the analyses. The importance of such small changes is elucidated in chapter 3.1 studying the effects of a β -mimetic (ritodrine) on the thyroid hormone status. This drug is used in suppression of early labour during pregnancy. It has been suggested that hyperthyroidism could be induced as a

complication. In our investigations an elevation of the T_3 concentration of short duration has been found. Most probably this is a reason for the tachycardia which is often observed as a side effect of administration of ritodrine. During this type of therapy only one of seventeen patients showed suppression of TSH levels in the blood, compatible with hyperthyroidism. In 16 other patients, TSH concentrations correlated well with reference values for euthyroidism. It can be concluded from our observations that the use of ritodrine leads to temporary stimulation of a de-iodase enzyme (type I de-iodase), responsible for the catabolism of thyroid hormones. Ritodrine itself does not induce the development of hyperthyroidism. In hyperthyroid patients, however, an increased conversion of T_4 to T_3 must be considered.

In chapter 3.2 the ultrasensitive TSH determination is used for studying the changing thyroid status after ovulation. It appears that when compared to the follicular phase, the TSH concentration after ovulation is slightly decreased. In a non ovulating patient no decrease of TSH concentration has been found. As TSH is produced by the pituitary and is subject to a negative feedback mechanism by thyroid hormones, the decrease of TSH concentration must be the result of increase of thyroid hormones in the blood. This latter increase is so small that it can not be observed using the available determination methods. Moreover, probably only the concentration of non-protein-bound thyroid hormone is changed. This can be explained by the hypothesis that the free thyroid hormone concentration increases by displacement of thyroxine from the binding proteins by the considerably elevated progesterone concentration in the blood during the luteal phase of the menstrual cycle.

In chapter 3.3 the suitability of the ultrasensitive TSH determination for the follow up of patients on synthetic thyroid hormone therapy is described. The regulating system, including the feedback mechanism for TSH secretion, is kept upright and even during subfunction of the thyroid gland the TSH level in the blood is a parameter for the correct supplementation of exogenously administered thyroxine. This thyroxine supplementation could also be controlled by functional parameters such as the PEP/LVET ratio or the SHBG concentration. The underlying idea is that peripheral effects of thyroid hormones are more important in substitution therapy than the effects on the pituitary-thyroid and hypothalamic-pituitary stimulating systems. We have shown, however, that these functional parameters have little correlation with the clinical symptoms of the patients. The same is true for the plasma concentrations of the thyroid hormones and of TSH. Sensitivity and specificity of all determined parameters for the assessment of the euthyroid status appear to be relatively low. As there is no 'golden standard' for euthyroidism, however, the TSH determination with the good discrimination possibilities for comparison of hyperthyroidism and euthyroidism seems to be the method of choice for the control of thyroid hormone supplementation.

It can be concluded that the ultrasensitive TSH determination introduces a refinement in the diagnosis and treatment of abnormal thyroid hormone conditions.

The second pituitary hormone which has been investigated is the luteinizing hormone (LH). Ultrasensitive detection and determination methods are now available for this glycoprotein. Very few clinical applications have been suggested, but the LH determinations seem to be quite valuable for the study of biorhythms in response to external changing situations such as stress and physical exercise.

In chapter 4 a short survey is given of biorhythms in endocrinology. It appears that

changes in hormone levels are mostly so small that they can only be detected with ultrasensitive methods. Moreover, there is great chemical similarity between different pituitary hormones and determination methods have to be very selective as well. The IRMA methods (as described in chapter 2) appear to be suitable for this type of investigation. However, more information must be obtained concerning differences between biological and immunological/immunochemical activities of the glycoprotein hormones: this is especially true for LH.

One of the ultrasensitive LH determinations now available has been used to study the pulsatile character of pituitary hormone secretion. This pulsatility is thought to be a reflection of hypothalamic activity in which the hypothalamus is considered to connect the neurogenic and endocrine regulation systems.

Pulsatility studies of protein hormones have only just started, and the lack of sensitive and specific analytical procedures was one of the reasons for this. Studies on the influence of physical exercise, both training and acute exercise, on the endocrine system have nevertheless been performed. Therefore physical exercise as a trigger of the endocrine system in pulsatility studies was chosen for our investigations as described in chapter 5. We have seen that the pulsatile properties of LH does not change under acute physical exercise. It also seems that chronic exercise (training) has no influence either on the pulsatility or on the basal hormone concentrations. However, physical exercise leads to prolongation of the menstrual cycle in healthy women. It is now clear that this can not be explained by changing LH concentrations or changing pulsatile secretion.

A slight elevation of the TSH concentration in the plasma has been observed with acute physical exercise. The pulsatile character of TSH secretion is not influenced and the basal hormone concentration shows no change.

We have shown that in modern medicine many problems can be studied that are not directly related to disease, but more to the quality of life. The development of diseases can be determined in an earlier stage. Both possibilities are due to improvement and development of highly advanced analytical techniques as a part of refined diagnostic procedures. Molecular biology is the basis of physiology and disease, and research in this field will favourably influence clinical diagnosis and treatment.

Samenvatting

Gevoelige bepalingen van hypofysaire glycoproteïne hormonen: klinische en natuurwetenschappelijke toepassingen.

Dit proefschrift handelt over gevoelige eiwithormoonbepalingen en hun toepassingen.

In hoofdstuk 1 wordt aangegeven, hoe belangrijk hormonen zijn in de regulatie van vele processen, die zich in het lichaam afspelen. De hypofyse (een orgaan van ongeveer 10 * 13 * 6 mm met een gewicht van 0.5 gram, gelegen in de 'sella turcica' in de schedelbasis) is het centrale regelorgaan voor de huishouding van vele hormonen. Onder invloed van de hersenen worden hormonen aan de bloedbaan afgegeven, die elders in het lichaam hun werking uitoefenen op zogeheten doelwitorganen. Het TSH (Thyroid Stimulating Hormone, schildklier stimulerend hormoon) is een van die hormonen. Het stimuleert de schildklier tot de productie en secretie van de schildklierhormonen: thyroxine (T₄) en trijodothyronine (T₃). Een ander hypofysair hormoon, het luteïniserend hormoon of LH, is verantwoordelijk voor het tot stand komen van de ovulatie bij de vrouw en de stimulatie van de Leydigcel tot de productie van testosteron bij de man. Er is een negatieve terugkoppeling naar de hypofyse, hetgeen betekent dat hoe hoger de concentratie van de hormonen, zoals die door de doelwitorganen (schildklier, ovarium en testis) uitgescheiden worden, hoe lager de concentratie van de stimulerende hormonen TSH en LH. Slechts zeer geringe hoeveelheden hormoon zijn nodig om de doelwitorganen te stimuleren. Er moeten dan ook gevoelige bepalingsmethodieken gebruikt worden om deze concentraties in plasma te kunnen meten. Tot 1984 hadden de gebruikte bepalingsmethodieken (RIA- technieken) het nadeel dat zij wel de normale of verhoogde concentraties van de stimulerende hormonen konden meten, maar niet de verlaagde concentraties.

Deze zijn echter in de praktijk toch ook erg belangrijk.

In hoofdstuk 2 wordt een beschrijving gegeven van de IRMA- technieken, zoals deze voor de bepaling van de eiwithormonen sinds 1984 worden gebruikt. De IRMA-methode is 10 tot 50 keer zo gevoelig als de RIA-methode. In dit hoofdstuk wordt ingegaan op de theoretische achtergronden van deze verbetering. Verder wordt aangegeven dat de detectiedrempel wellicht nog verder zal dalen, indien overgestapt wordt op andere labels dan ¹²⁵J. De experimenten voor dit proefschrift zijn evenwel nog uitgevoerd met behulp van tracers die met dit isotoop gelabeld waren. De commercieel beschikbare methodieken voor zowel TSH als LH zijn met elkaar vergeleken en de analytische juistheid en nauwkeurigheid werden vastgesteld.

In hoofdstuk 3 worden enige klinische toepassingen van de zeer gevoelige TSH bepaling beschreven.

Er zijn artikelen verschenen, waarin de aandacht wordt gevestigd op de mogelijkheden die de IRMA-TSH biedt om verlaagde concentraties (zoals die voorkomen bij bijvoorbeeld hyperthyreoidie) en normale concentraties te kunnen onderscheiden. Hierdoor heeft de IRMA-TSH bepaling een vooraanstaande plaats gekregen in de diagnostiek van schildklierafwijkingen. Doordat de bepaling van TSH zoveel gevoeliger is geworden is het ook mogelijk om kleine veranderingen in concentratie te kunnen detecteren. Het gaat dan over veranderingen, die zo klein zijn dat zij vroeger in de ruis zouden zijn verdronken. Dat deze toch belangrijk kunnen zijn, wordt in hoofdstuk 3.1 aangetoond, bij de bestudering van de effecten van een bepaald geneesmiddel op de schildklierhormoonstatus. Daarbij gaat het om ritodrine, een stof die vroegtijdige weeën bij zwangere vrouwen kan onderdrukken. Als bijwerking bij gebruik van dit middel zou hyperthyreoidie kunnen ontstaan. Het onderzoek heeft aangetoond, dat er een kortdurende verhoging van de T_3 concentratie is. Deze is ongetwijfeld verantwoordelijk voor het optreden van tachycardie, zoals dat vaak bij het gebruik van ritrodine gezien wordt. Slechts 1 van 17 patiënten bleek tijdens de therapie een TSH concentratie te hebben, die overeenkomt met een hyperthyreoidie. Alle andere patiënten hadden een TSH concentratie binnen de referentiewaarden voor euthyreoidie. Op grond van de waarnemingen wordt geconcludeerd, dat het gebruik van ritodrine leidt tot tijdelijke stimulatie van een van de deiodase enzymen (het type I deiodase) die verantwoordelijk zijn voor de omzetting van de schildklierhormonen naar afbraakproducten. Ritodrine zelf geeft dus geen aanleiding tot de ontwikkeling van een hyperthyreoidie; wel moet er bij hyperthyreotische patiënten rekening gehouden worden met een versterkte omzetting van T_4 naar T_3 .

In hoofdstuk 3.2 wordt gebruik gemaakt van de zeer gevoelige TSH bepaling om de verandering van de schildklierstatus na de ovulatie te bestuderen. Het blijkt dat in vergelijking met de folliculaire fase de TSH concentratie na de ovulatie licht gedaald is. Bij een patiënte die niet ovuleerde, bleek er geen daling van de TSH concentratie te zijn. Aangezien het TSH geproduceerd wordt door de hypofyse, terwijl de hypofyse negatief terug gekoppeld is met de schildklier, moet de daling van de TSH een afspiegeling zijn van een verhoging van de schildklierhormoonconcentratie. Deze verhoging is echter zo gering, dat deze met de huidige bepalingsmethoden niet gemeten kan worden. Waarschijnlijk is bovendien alleen de concentratie van het schildklierhormoon in vrije vorm (niet aan eiwit gebonden) veranderd. De vrije-thyroxine concentratie kan enigszins verhoogd zijn door verdringing van eiwit gebonden thyroxine door de verhoogde progesteron concentratie in de luteale fase.

In hoofdstuk 3.3. wordt beschreven, dat de gevoelige TSH bepaling ook gebruikt kan worden voor het volgen van patiënten die synthetisch schildklierhormoon krijgen vanwege een hypothyreoidie. Het regelsysteem van de TSH secretie blijft dan in stand, waardoor na het uitvallen van de schildklier middels de TSH bepaling gekeken kan worden of de suppletie met thyroxine adequaat is. Deze suppletie zou ook gecontroleerd kunnen worden met functionele parameters, zoals de PEP/LVET verhouding of de SHBG concentratie. Dit laatste stoelt op de gedachte, dat eerder de perifere effecten van de schildklierhormonen gemeten zouden moeten worden, dan de effecten ervan op het regelsysteem binnen de hypofyse. In het onderzoek bleek, dat de functionele parameters weinig correlatie vertonen met de klinische indruk, die de patiënten maken. Hetzelfde geldt ook voor de concentraties van de schildklierhormonen en van het TSH. De gevoeligheid en de specificiteit van alle bepaalde parameters voor het vaststellen van een

euthyreotische status blijkt niet groot te zijn. Er is echter geen "gouden standaard", die zegt wanneer een bepaalde patient euthyreoot is. Op grond van het grote onderscheidings vermogen van de TSH bepaling ten aanzien van de hyper/euthyreotische status, wordt de suggestie gedaan de suppletie van schildklierhormoon te controleren met behulp van deze bepaling.

Samenvattend kan dus gesteld worden, dat de gevoelige TSH bepaling een verfijning mogelijk heeft gemaakt binnen de detectie van afwijkingen van de schildklierhormoon status.

Ook het tweede hypofysaire hormoon dat is onderzocht, het luteïniserend hormoon, kan tegenwoordig bepaald worden met gevoelige en specifieke bepalingsmethodieken. Hiervoor zijn echter nog maar heel weinig klinische toepassingen bekend. Wel kan juist dit hormoon bepaald worden, wanneer men de periodieke veranderingen in het lichaam wil bestuderen, die nodig zijn om het lichaam voortdurend aan te passen aan veranderde omstandigheden, zoals stress na en tijdens lichamelijke inspanning. In hoofdstuk 4 wordt een kort overzicht gegeven van de bioritmes die binnen de endocrinologie bekend zijn. Het blijkt dat de veranderingen dusdanig gering zijn, dat zij alleen met zeer gevoelige methoden kunnen worden vastgesteld. Bovendien lijken de hormonen die door de hypofyse worden geproduceerd chemisch zo veel op elkaar, dat de bepalingsmethodiek ook zeer specifiek moet zijn. Met de in hoofdstuk 2 beschreven IRMA methodieken, blijkt de ideale bepalingsmethoden dicht te zijn benaderd. Wel blijven er nog vragen over ten aanzien van verschillen tussen de biologische en de immunologische activiteit van het bepaalde hormoon, hetgeen met name van toepassing is bij het LH.

Een van de beschikbare gevoelige LH-methodes is gebruikt om de pulsatiliteit van de hypofysaire secretie te bestuderen. Deze pulsatiliteit wordt beschouwd een afspiegeling te zijn van de hypothalamische activiteit, waarbij de hypothalamus gezien wordt als de verbindingsplaats tussen neurogene en endocriene regelsystemen.

De studies naar pulsatiliteit van eiwhormonen staan echter nog in de kinderschoenen, onder andere omdat tot nu toe gevoelige en specifieke bepalingsmethoden ontbraken. Wel is het een en ander bekend over de invloed van fysieke belasting (training en acute inspanning) op het endocriene systeem. Daarom is juist fysieke inspanning gekozen als trigger van het endocriene systeem bij de pulsatiliteitsstudies van hoofdstuk 5.

Wij hebben aangetoond dat de pulsatiliteit van het LH niet verandert onder invloed van acute inspanning. Verder is gebleken, dat chronische inspanning (training) ook geen invloed heeft op de pulsatiliteit of op de basale hormoonconcentratie. Wel bleek dat inspanning leidde tot verlenging van de menstruele cyclus bij de proefpersonen. De verklaring hiervoor moet dus niet in veranderde LH concentraties gezocht worden. Acute inspanning gaf wel aanleiding tot een (geringe) verhoging van de TSH concentratie. Ook hier echter kon aangetoond worden, dat het pulsatiliteitspatroon niet was beïnvloed en ook dat de basale hormoon concentratie niet veranderde.

De moderne geneeskunde is in staat problemen aan te pakken, die niet meer rechtstreeks met ziekte te maken hebben, maar die wel met de kwaliteit van het leven van doen hebben. Ook worden ziekten zelf in een steeds eerder stadium gediagnosticeerd. Deze ontwikkelingen zijn mogelijk geworden door een verfijning van de diagnostische methoden, waarbij de ontwikkeling van ultrasensitieve, specifieke analyses een essentiële rol speelt.