

## Testosteron/FSH-ratio in vruchtwater als hulpmiddel bij de prenatale geslachtsbepaling

J.A.P. BONNS<sup>1</sup>, D. de BOER<sup>1</sup>, C. WILLEKES<sup>2</sup> en P.P.C.A. MENHEERE<sup>1</sup>

### Inleiding

Vroeger werd vaker gebruik gemaakt van de testosteron/FSH-ratio in vruchtwater voor de prenatale geslachtsbepaling. Het gebruik van de testosteron/FSH-ratio in vruchtwater werd voor het eerst beschreven door Belisle et al. in 1977 (1). In een artikel van Wong et al. uit 1980 (2) werden de testosteron- en FSH-concentraties bepaald in vruchtwater van patiënten met de ziekte van Duchenne (n=10), een aangeboren en X-gebonden erfelijke aandoening van de spieren. De testosteron/FSH-ratio werd berekend en tevens werd er karyotypering uitgevoerd. Bij één van de tien patiënten kon er geen uitspraak worden gedaan over het geslacht van de foetus op basis van de testosteron/FSH-ratio. Wong et al. toonden aan dat de combinatie van karyotypering en de testosteron/FSH-ratio resulteerde in een hogere diagnostische accuraatheid ten opzichte van het uitvoeren van alleen karyotyperinganalyse. Verschillende studies tonen aan dat de concentratie FSH in vruchtwater omgekeerd evenredig is met de concentratie testosteron in vruchtwater. De testosteron/FSH-ratio is hoger in het vruchtwater indien er sprake is van een mannelijke foetus in vergelijking met een vrouwelijke foetus (3, 4). Tegenwoordig wordt voor de prenatale geslachtsbepaling vooral gebruik gemaakt van echografie en cytogenetica. De echografie is echter pas betrouwbaar vanaf een zwangerschapsduur van 18-20 weken. Bij zwangerschappen waarbij er een risico bestaat op ernstige geslachtsgebonden ziekten, is er behoefte aan een eerdere geslachtsbepaling aan het einde van het eerste trimester of het begin van het tweede trimester. Tegenwoordig kan men al vroeg in een zwangerschap het geslacht van de foetus bepalen met behulp van foetaal-DNA-analyse uit matернаal bloed (5). Dit is echter een dure, bewerkelijke techniek. Indien echografie geen uitsluitsel geeft over het geslacht, dan kan de ratio testosteron/FSH in vruchtwater mogelijk ondersteuning geven. Deze ratio is ook een hulpmiddel bij de geslachtsbepaling indien er sprake is van een discrepantie tussen de echografische en de cytogenetische uitslagen. Discrepancies tussen echografisch en cytogenetisch onderzoek komen echter in enkele gevallen per jaar voor. Om toch een uitspraak te kunnen doen over het geslacht van de foetus

kan toevlucht worden genomen tot de testosteron/FSH-ratio. Daarvoor is het noodzakelijk om de gevonden testosteron- en FSH-concentraties te vergelijken met de testosteron- en FSH-concentraties van een zelf opgebouwde referentiepopulatie.

Tevens kan de testosteron/FSH-ratio een bijdrage leveren bij het voorspellen van de fenotypische uiting bij genotypisch bevestigde geslachtsafwijkingen zoals bij XY/XO-mozaïek. XO-mozaïek treedt op als slechts een gedeelte van de cellen een enkel X-chromosoom hebben. Een XY/XO-mozaïek is een vorm waarbij een aantal cellen XY-chromosomen bevat. Deze speciale vorm van mozaïek wordt 'mixed gonadal dysgenesis' genoemd. De meeste kinderen met XY/XO-mozaïek hebben normale mannelijke genitaliën, sommige kinderen hebben vrouwelijke genitaliën en sommige worden geboren met niet-eenduidige genitaliën (6, 7). Totaalgenoomanalyse kan dan bijdragend zijn om het onderliggende probleem te achterhalen. Het doel van dit onderzoek is om aan te tonen dat de testosteron/FSH-ratio in vruchtwater duidelijk van toegevoegde waarde is bij de geslachtsbepaling.

### Methode

De testosteronconcentraties (nmol/l) werden bepaald met de RIA Coat-a-Count methode van Siemens-DPC. De FSH-concentraties (U/l) werden bepaald met de hFSH-methode op een Autodelfia van Perkin Elmer. De referentiewaarden van testosteron en FSH zijn bepaald in het vruchtwater van vijftig zwangere vrouwen. Alle vruchtwaterpuntes zijn afgenomen bij een zwangerschapsduur van 16 weken. Het genotype van de foetussen was cytogenetisch bepaald. De cytogenetische resultaten kwamen in alle gevallen overeen met het fenotype van het kind bij de geboorte. Ondanks de mogelijke beperkingen worden uitslagen van monsters afgenomen gedurende de gehele zwangerschap vergeleken met deze 'referentie'groep gebaseerd op 16 weken zwangerschapsduur.

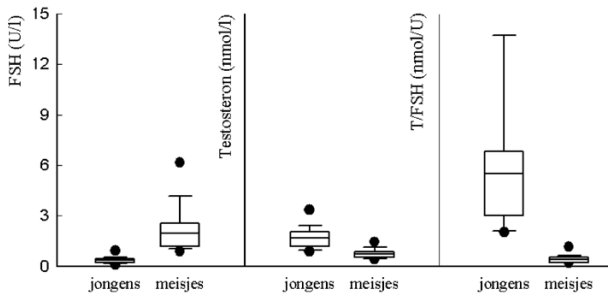
### Resultaten

Voor de referentiepopulatie waren de gemiddelde en SD voor testosteron voor jongens en meisjes respectievelijk 1,57/0,66 en 0,74/0,30 nmol/l. Gemiddelde en SD voor FSH voor jongens en meisjes waren respectievelijk 0,32/0,20 en 2,20/1,34 U/l. Gemiddelde en SD voor de ratio testosteron/FSH voor jongens en meisjes waren respectievelijk 7,0/7,66 en 0,41/0,25 nmol/U. Bij een afkapgrens van 1,68 nmol/U voor de testoste-

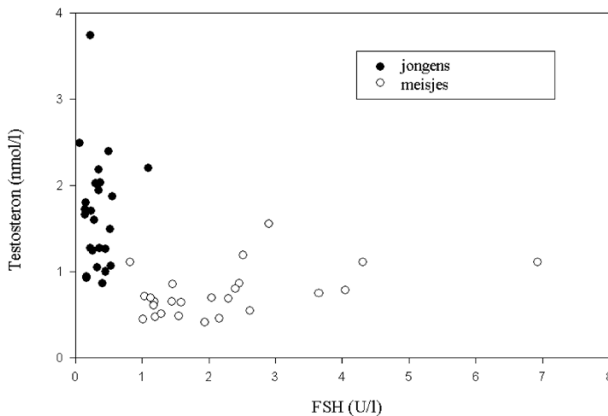
*Laboratorium Klinische Chemie<sup>1</sup> en Afdeling Gynaecologie<sup>2</sup>, Maastricht Universitair Medisch Centrum*

E-mail: judith.bons@mumc.nl

ron/FSH-ratio bleek zowel de sensitiviteit als de specificiteit 100% te bedragen. In figuur 1 zijn de mediaan, 25ste en 75ste kwartielen weergegeven in box-and-whiskerplots. Door de gevonden waarden grafisch uit te zetten tegen de referentiewaarden kan een uitspraak over het (meest waarschijnlijke) geslacht van de foetus worden gedaan. Tot nu toe is voor alle aanvragen (dit betreft slechts enkele aanvragen per jaar) optische vergelijking van de gevonden concentraties met een in eigen beheer opgebouwde referentiepopulatie voldoende gebleken. In figuur 2 zijn alle datapunten van de referentiepopulatie grafisch uitgezet. Door het resultaat van een nieuwe patiënt uit te zetten in deze grafiek, kan men in een oogopslag zien of de uitslag past bij een mannelijke dan wel vrouwelijke foetus.



**Figuur 1.** De FSH-, testosteron- en de ratio-uitslagen van de referentiepopulatie, bepaald in het vruchtwater van vijftig vrouwen bij een zwangerschapsduur van 16 weken, zijn weergegeven in box-and-whiskerplots. De 'error bars' geven het 10<sup>e</sup> en 90<sup>e</sup> percentiel weer en de zwarte bolletjes geven het 5<sup>e</sup> en 95<sup>e</sup> percentiel weer.



**Figuur 2.** Deze figuur toont alle datapunten die zijn gebruikt om de referentiewaarden te definiëren voor testosteron en FSH in het vruchtwater van vijftig vrouwen bij een zwangerschapsduur van 16 weken.

## Conclusies

De testosteron/FSH-ratio in vruchtwater levert, in de sporadische gevallen waarbij routineonderzoek niet voldoet, een zinvolle bijdrage bij de geslachtsbepaling. De testosteron/FSH-ratio is tevens een hulpmiddel bij het voorspellen van de fenotypische uiting bij genotypisch bevestigde geslachtsafwijkingen. De door ons bepaalde referentiewaarden zijn gebaseerd op een zwangerschapsduur van 16 weken, de zwangerschapsduur waarbij invasieve technieken werden toegepast vóór de introductie van het standaardechoscopisch onderzoek dat tegenwoordig plaatsvindt bij 20 weken. Dit betekent echter wel dat er sprake is van een selectiebias omdat er telkens een medische indicatie aanwezig was. Echter ook tegenwoordig wordt er op basis van een medische indicatie een vruchtwaterpunctie uitgevoerd. Indien de vruchtwaterpunctie heeft plaatsgevonden in een periode die niet overeenkomt met de referentiepopulatie, dan dient men de waarden onder reserve te interpreteren. Er wordt naar gestreefd om zwangerschapsduurafhankelijke referentiewaarden te verkrijgen, maar door het geringe aantal aanvragen is dit een langdurig proces.

## Referenties

1. Belisle S, Fencel MM, Tulchinsky D. Amniotic fluid testosterone and follicle-stimulated hormone in the determination of fetal sex. *Am J Obstet Gynecol* 1977; 128: 514.
2. Wong PY, Doran TA, Falk M, Taylor GW, Mee AV. Prenatal diagnosis of fetal sex by amniotic fluid testosterone and FSH, and their potential use in detecting sex linked disorders. *Clin Biochem* 1980; 18: 135-138.
3. Kunzig HJ, Meyer U, Schmitz-Roeckerath B, Broer KH. Influence of fetal sex on the concentration of amniotic fluid testosterone. *Antenatal sex determination? Arch Gynak* 1977; 223: 75.
4. Zondek T, Mansfield MD, Zondek LH. Amniotic fluid testosterone and fetal sex determination in the first half of pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1977; 84: 714.
5. Bustamante-Aragones A, Rodriguez de Alba M, Gonzales-Gonzales C, Trujillo-Tiebas MJ, Diego-Alvarez D, Vallespin E et al. Foetal sex determination in maternal blood from the seventh week of gestation and its role in diagnosing haemophilia in the foetuses of female carriers. *Haemophilia* 2008; 14: 593-598.
6. Siklar Z, Berbero lu M, Adiyaman P, Salih M, Tükün A, Cetinkaya E, et al. Disorders of gonadal development: a broad clinical, cytogenetic and histopathologic spectrum. *Pediatr Endocrinol Rev* 2007; 4: 210-217.
7. Ostrow V, De Luca F. Long term follow-up of a child with ambiguous genitalia, mixed gonadal dysgenesis, and unusual mosaicism. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2009; 22: 863-866.