

Zeitschrift: Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche

Band: 34 (1978)

Artikel: LHRH urinaire : dosage radioimmunologique et signification physiologique

Autor: Sizonenko, Pierre C. / Copeland, Kenneth C. / Paunier, Luc

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-308156>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 13.10.2024

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Unité d'Endocrinologie, Département de Pédiatrie et de Génétique de la Faculté de Médecine, Université de Genève

LHRH URINAIRE: DOSAGE RADIOIMMUNOLOGIQUE ET SIGNIFICATION PHYSIOLOGIQUE

PIERRE C. SIZONENKO, KENNETH C. COPELAND, LUC PAUNIER et MICHEL L. AUBERT

Summary

A LHRH-like substance is detectable in the urine. It is extractable by glass powder, which suggests that it is a peptide, and it can be concentrated by anti-LHRH affinity chromatography, strongly suggesting that it is not a contaminant in the RIA. It is composed of very little intact LHRH, and the great majority appears as multiple smaller fractions, although the possibility of "urinary LHRH" being a slightly larger peptide containing a sequence similar or identical to that of LHRH has not been entirely eliminated. Urinary measurements show no correlation with the clinical state, and the widely differing values obtained using different antisera in the present study emphasize the need for in-depth antiserum binding studies prior to clinical use in the LHRH radioimmunoassay.

Zusammenfassung

Im Urin konnte eine LHRH-ähnliche Substanz isoliert werden, die sich mit Glaspuder extrahieren lässt. Mit Hilfe der Anti-LHRH Affinitätschromatographie lässt sich diese Substanz anreichern, eine RIA-Verunreinigung kann deshalb mit grösster Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Die Zusammensetzung besteht aus sehr geringen Spuren intakter LHRH, sowie zum grössten Teil aus zahlreichen kleineren Fraktionen. Die Möglichkeit, dass "Urine-LHRH" ein etwas grösseres Peptid mit einer ähnlichen oder identischen Sequenz wie LHRH ist, kann vorderhand nicht absolut ausgeschlossen werden. Die Harnanalyse zeigt keine Korrelation mit dem klinischen Zustand. Die weite Streuung der Resultate dieser Studie, wobei verschiedene Antisera zur Anwendung kamen, unterstreicht die Notwendigkeit weiterer schrittweiser Untersuchungen mit der Antiserum-Bindungsreaktion, bevor eine klinische Anwendung im radioimmunologischen LHRH Test empfohlen werden kann.

Introduction

Les données présentes de la littérature suggèrent fortement que le LHRH (en anglais: luteinizing-hormone releasing hormone), après avoir été secrété par l'hypothalamus, subit des modifications métaboliques, sans que l'importance de la dégradation du LHRH soit actuellement bien connue. Du fait qu'il a été bien montré que le LHRH est secrété de manière pulsatile et que, dans le plasma, les taux circulants de LHRH sont souvent en-dessous des limites de détection, il est possible que le LHRH ou ses métabolites puissent être mesurés dans l'urine. Dans ce but, une étude méthodologique du contenu de l'urine en LHRH et de ses fragments devait être engagée, en particulier pour mieux effectuer l'intégration et la sommation des pics endogènes de LHRH. Cette étude du LHRH urinaire pourrait comporter en clinique humaine une signification diagnostique.

Méthodes

La spécificité et les caractéristiques de liaison de 11 sera anti-LHRH obtenus chez le lapin ont été déterminés en fonction de 41 analogues ou fragments de LHRH. Le LHRH synthétique (1-10 décapeptide) utilisé pour le marquage et les immunisations gracieusement offert par les laboratoires Hoechst (Frankfurt/Main), a été marqué à l'iode¹²⁵ par la technique à la chloramine T et purifié sur une colonne de Sephadex G-25. Des fragments et des analogues de synthèse ont été donnés par les Docteurs J. Rivier et R. Guillemin, du Salk Institute, San Diego, Californie, et par le Dr D. Gillessen de Hoffmann-La Roche, Bâle.

Dans le cadre de cette investigation clinique, seuls 3 des 11 antisera ont été conservés et comparés: l'antiserum Genève A9, obtenu dans notre laboratoire, l'antiserum IJ-29, gracieusement offert par les Drs I. Jackson et S. Reichlin, enfin, l'antiserum R42 du Dr G.D. Niswender. Le pourcentage de réaction croisée de chaque fragment ou analogue de LHRH pour chacun des antisera et le pourcentage d'inhibition des fragments de LHRH les plus importants ont été déterminés et représentés sur la figure 1, le décapeptide 1-10 entier servant de référence (100 % de réaction-croisée). L'antiserum R42 ne reconnaît que le décapeptide synthétique 1-10, et aucun autre fragment. L'antiserum IJ-29 est spécifique de la partie C-terminale du décapeptide, soit la séquence 7-10. Tous les fragments contenant la séquence 7-10 sont reconnus par cet anticorps. Enfin, l'antiserum A9 est moins spécifique et détecte n'importe quel fragment. Cependant, les fragments de LHRH ne réagissent que faiblement en comparaison du décapeptide entier.

ANTISERA




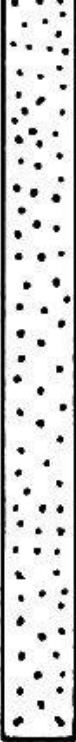

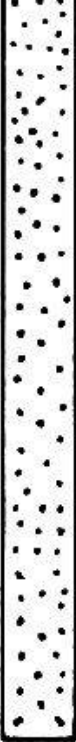

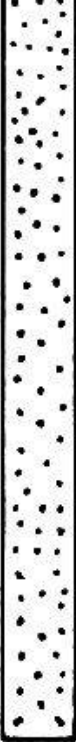

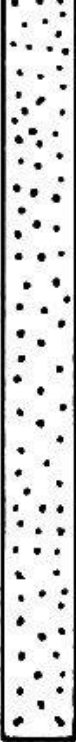

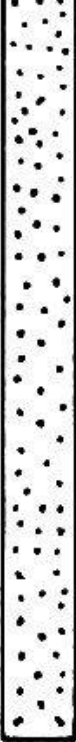

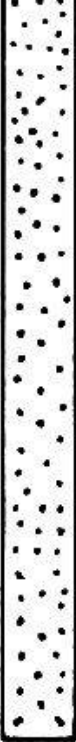

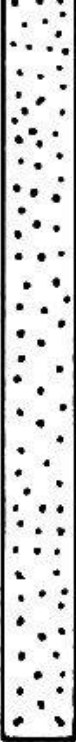
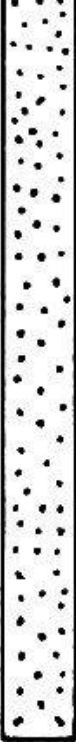
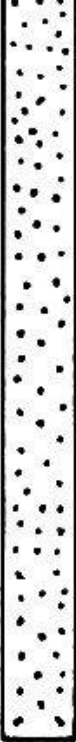
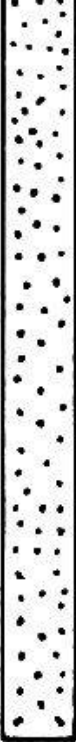
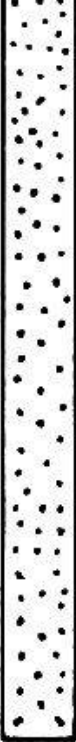
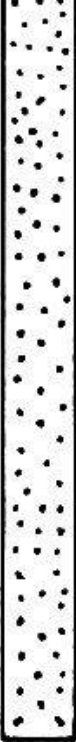
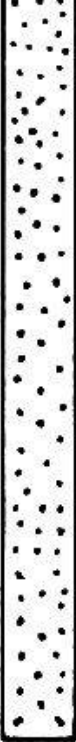
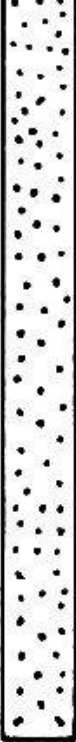
LHRH Fragment	A9	IJ 29	R42
1-10 decapeptide	 100	 100	 100
2-10 fragment	 14	 100	0
3-10 fragment	 10	 100	0
4-10 fragment	 6	 110	0
5-10 fragment	 4	 102	0
6-10 fragment	 2	 100	0
7-10 fragment	 10	 140	0
1-2 fragment	 0	0	0
1-3 fragment	 0	0	0
1-4 fragment	 0	0	0
1-5 fragment	 4	0	0
1-6 fragment	 8	0	0
1-7 fragment	 12	0	0
1-8 fragment	 0	0	0
1-9 fragment	 14	17	0

Fig. 1. Pourcentage de réaction-croisée des fragments de LHRH avec le décapeptide 1-10 (100 % par définition) dans le cas des trois anticorps utilisés: A9, IJ-29 et R42.

Résultats cliniques

Dans le but de doser le contenu en LHRH de l'urine, des urines fraîches ou conservées quelques jours à -20°C sont mises en incubation en présence de poudre de verre Vycor. Le LHRH et ses fragments urinaires sont ensuite extraits de la poudre de verre par le méthanol. Ces éluats sont évaporés et concentrés. La récupération du LHRH synthétique est de 55 à 70 %. Les extraits sont ensuite dosés par méthode radioimmunologique utilisant les 3 anticorps déjà décrits.

Comme le montrent les valeurs individuelles de LHRH urinaire obtenues avec l'anticorps A9, le moins spécifique des trois anticorps, du matériel semblable au LHRH peut être décelé dans l'urine (fig. 2). Cependant, la variabilité des concentrations en ng/g de créatinine est grande et aucune différence n'a été trouvée entre un groupe d'enfants prépubères (P1) et des groupes d'adultes. Surtout, aucune différence n'a été constatée dans le groupe dit

Urinary LHRH A9 Antiserum

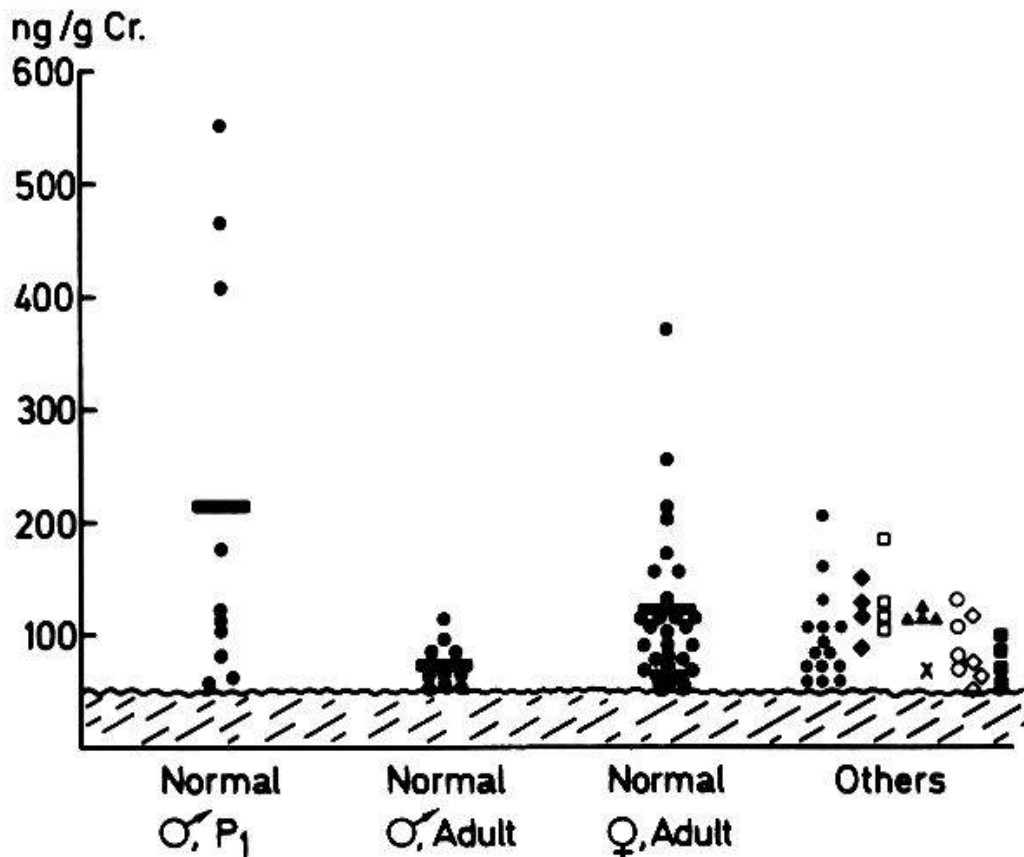


Fig. 2. Concentrations de LHRH urinaire immunoréactif (ng/g de créatinine) mesurées avec l'anticorps A9 chez les garçons prépubères (Normal ♂, P1), chez les hommes adultes (Normal ♂, Adult), chez les femmes adultes (Normal ♀, Adult) et chez un groupe de patients (intitulé "others"). Triangles noirs: syndrome de Turner; carrés blancs: panhypopituitarisme; losanges blancs: hypogonadisme hypogonadotrophique; cercles blancs: puberté précoce; étoiles: début de développement pubertaire (stade P2) chez 15 garçons; losanges noirs: retards de croissance idiopathique; carrés noirs: syndrome de Klinefelter ayant dépassé l'âge de la puberté; croix: jeune fille normale en début de puberté (stade P2).

"autres", formé de cas de syndrome de Turner à l'âge pubertaire, non traités, avec gonadotrophines plasmatiques élevées, des cas de panhypopituitarisme associé à un craniopharyngiome et d'hypogonadisme hypogonadotrophique.

A titre de comparaison, les résultats obtenus avec l'anticorps IJ-29 (spécifique pour le fragment 7-10) sont présentés sur la figure 3. Dans tous les cas, le matériel LHRH-semblable est détectable, à une concentration cinq fois inférieure à celle obtenue par l'anticorps A9. De nouveau, aucune différence significative n'est visible entre les différents groupes. Enfin, les résultats obtenus avec l'anticorps R42 (fig. 4) révèlent que, dans plusieurs cas, le matériel intact (1-10 décapeptide) n'est pas décelable. La limite de détection est représen-

Urinary LHRH IJ 29 Antiserum

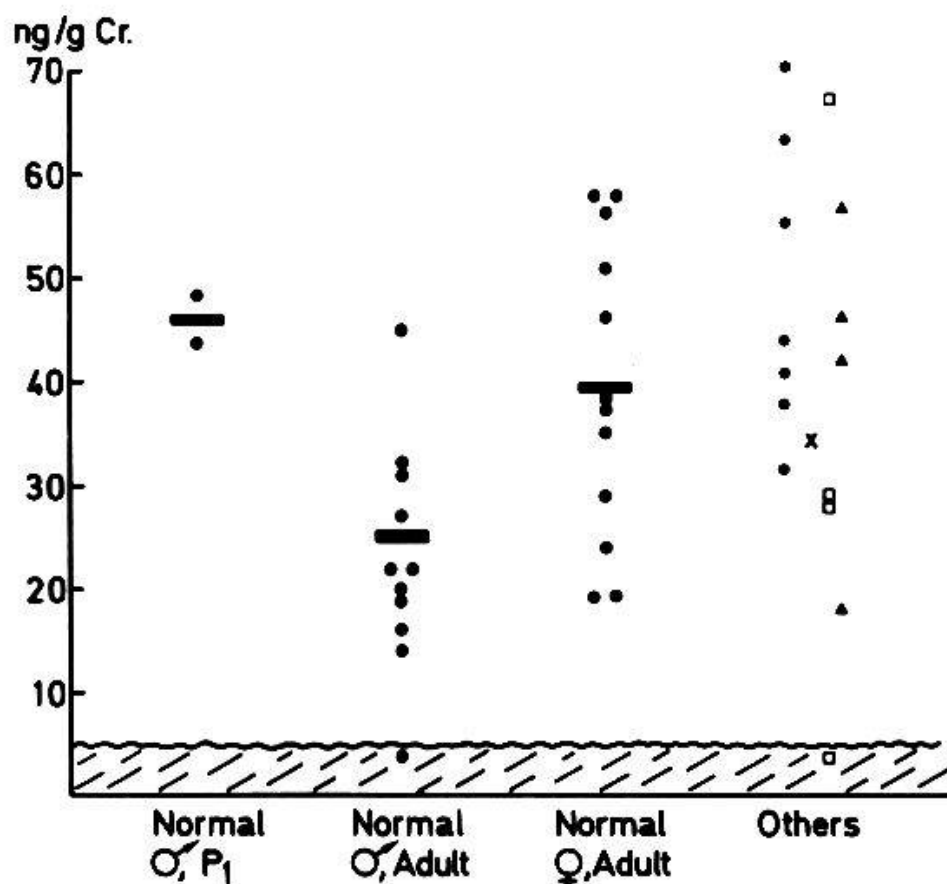


Fig. 3. Concentrations de LHRH urinaire immunoréactif (ng/g de créatinine) mesurées à l'aide de l'anticorps IJ-29. Pour la signification des symboles, voir la légende de la figure 2.

tée par la zone hachurée. Quand une concentration mesurable de LHRH est obtenue, celle-ci représente environ 1 % de celle obtenue pour la même urine avec l'anticorps A9. De nouveau, les valeurs obtenues pour les malades, en particulier celles atteintes de syndrome de Turner, ne sont pas différentes des valeurs normales.

Analyse chromatographique des fragments de LHRH urinaire

Afin de mieux analyser les fragments de LHRH présent dans l'urine, une chromatographie par affinité a été utilisée. Un anticorps anti-LHRH (antiserum RR5-1), gracieusement fourni par les Drs A. Root et E. Reiter (semblable au R42 et nécessitant la séquence complète 1-10) a été couplé au Sepharose 4-B. 500 ml d'urine ont été passés sur la colonne. Après élution de la colonne à pH 1.0 et dosage des éluats à l'aide de l'anticorps A9, aucun matériel LHRH-semblable n'a été trouvé dans ceux-ci.

Urinary LHRH
R 42 Antiserum

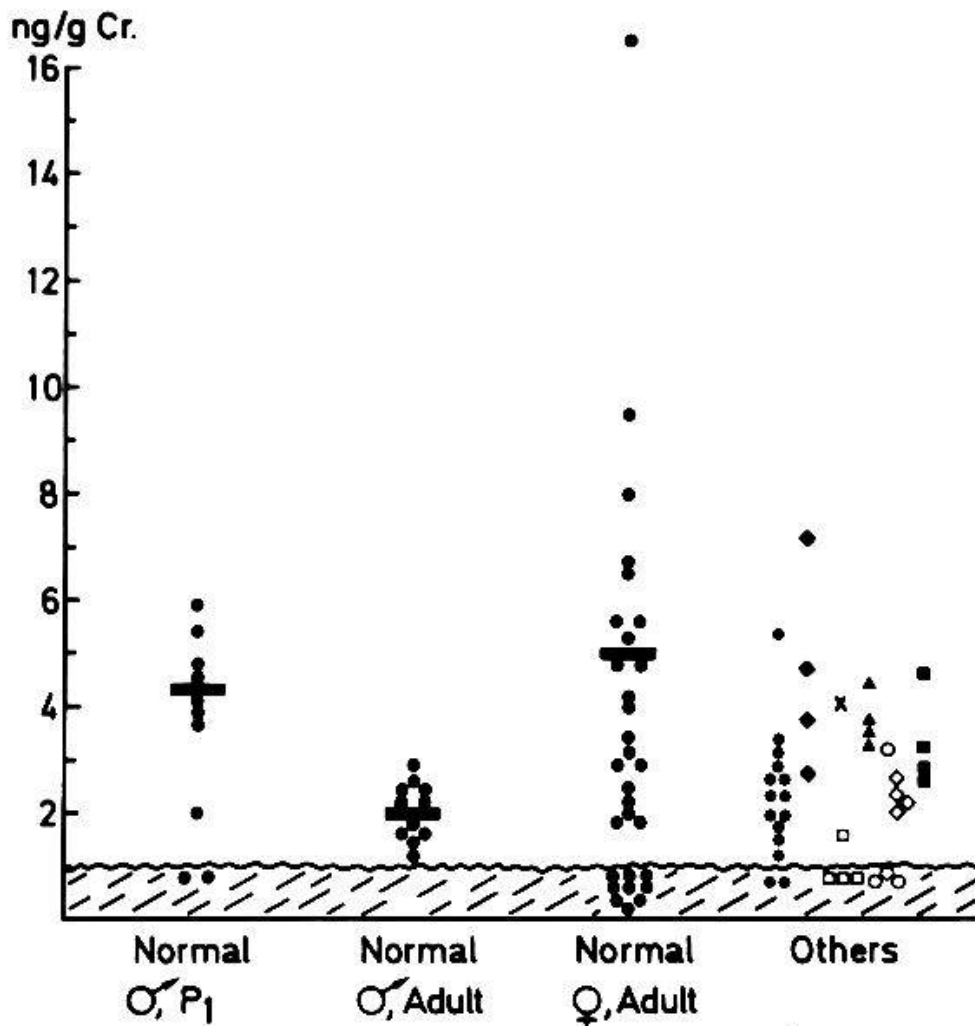


Fig. 4. Concentrations de LHRH urinaire immunoréactif (ng/g de créatinine) mesurées à l'aide de l'anticorps R42 spécifique du décapeptide 1-10. Pour la signification des symboles, voir la légende de la figure 2.

De la même façon, la γ -globuline extraite de l'antiserum A9 (le moins spécifique des anticorps) a été couplée au Sepharose 4-B. De nouveau, 500 ml d'urine ont été chromatographiés sur la colonne et élués à pH 1.0. Par le dosage radioimmunologique utilisant l'anticorps A9, une très grande quantité de matériel LHRH a été détectée. Un petit pic de substance immunoréactive a aussi été retrouvée par l'anticorps R42 (environ 1 % de l'immunoréactivité mesurée par l'anticorps A9). La substance retrouvée par le dosage à l'aide de l'antiserum R42 se comporte de la même façon radioimmunologique que le LHRH intact 1-10.

Conclusion

Du matériel LHRH-semblable peut être décelé dans l'urine. Il est extrait par la poudre de verre, ce qui suggère qu'il s'agit de peptide, et peut être concentré par chromatographie d'affinité, ce qui fait penser qu'il ne s'agit pas d'un contaminant. Ce matériel est composé d'une très petite quantité de LHRH intact (1-10). La grande majorité semble être formée par une ou plusieurs fractions, bien que la possibilité que le "LHRH urinaire" soit un peptide plus grand contenant une séquence similaire ou identique au LHRH n'ait pas été entièrement éliminée. Les dosages du "LHRH urinaire" dans un but clinique n'ont montré aucune corrélation avec l'état clinique et diffèrent de très grande façon selon l'antisérum utilisé. Ces différences montrent la nécessité absolue de pratiquer une étude approfondie de la spécificité et des caractéristiques de liaisons des antisérums anti-LHRH avant toute utilisation d'un dosage radioimmunologique du "LHRH urinaire".

Remerciements

Ce travail a été rendu possible grâce au Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique (crédit No. 3.742.76).

Adresse des auteurs: Prof. Dr Pierre C. Sizonenko, Clinique Universitaire de Pédiatrie, 30, Bd de la Cluse, CH-1211 Genève 4, Suisse

