

**DIKTAT PEMBELAJARAN**

Mata Kuliah : **BIOLOGI SEL DAN JARINGAN**

Kode Mata Kuliah : **BS-1**

Prodi/Jurusan : **PENDIDIKAN DOKTER**

Fakultas : **KEDOKTERAN**

Judul Diktat : **TESTOSTERON DAN SEX HORMONE BINDING GLOBULIN**



**Disusun oleh:**

**Dr. Drs. Edy Parwanto, M Biomed.**

**(NIK: 2775/USAKTI)**

**Universitas Trisakti**

**Jakarta**

**2023**

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Tuhan yang Maha Kuasa atas selesainya diktat ini.

Diktat ini membahas tentang testostosterone dan sex hormone binding globulin (SHBG). Testosterone yang dikenal sebagai hormon kelamin, sedangkan SHBG dikenal sebagai protein pengikat hormon kelamin termasuk testostosterone. Testosteron yang dihasilkan oleh sel Leydig di dalam testis berguna untuk spermatogenesis. Testosterone di dalam testis dikenal dengan testostosterone intratestikuler. Fungsi testostosterone di dalam testis untuk spermatogenesis diperantarai oleh protein sejenis SHBG yang disebut androgen binding protein (ABP). Testosterone yang tidak dimanfaatkan di dalam testis disekresikan ke dalam sirkulasi sehingga dikenal dengan testostosterone sirkuler. Testosteron sirkuler tersebut digunakan untuk umpan balik ke hipotalamus maupun hipofisis dan juga beraksi ke sel target, misalnya otot, dan tulang. Aksi testostosterone sirkuler diperantarai oleh SHBG.

Semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi pembaca khususnya Mahasiswa Fakultas Kedokteran.

Kami mengharapkan sumbangan pemikiran untuk perbaikan buku diktat ini.

Terima kasih kami ucapkan kepada semua pihak yang membantu dalam penyelesaian buku diktat ini.

Penulis

## DAFTAR ISI

BAB I	TESTOSTERON	6
	1. Molekul testosteron	6
	2. Fungsi testosteron	8
	3. Kadar testosteron	10
	4. Aksi testosteron	13
BAB II	SEX HORMONE BINDING GLOBULIN	14
	1. Molekul Sex hormone binding globulin	14
	2. Berat molekul SHBG	18
	3. Molekul SHBG dan aksi steroid	18
	4. Kadar SHBG	20
BAB III	GEN DAN POLIMORFISME SHBG	24
	1. Gen SHBG	24
	2. Polimorfisme SHBG	24
BAB IV	PENGUKURAN TESTOSTERON DAN SHBG	28
	1. Pengukuran testostosterone total	28
	2. Pengukuran kadar testostosterone bebas	28
	3. Pengukuran kadar sex hormone binding globulin	28
BAB V	PENENTUAN FENOTIP SHBG	30
	REFERENSI	31

## Daftar gambar

Gambar 1. Rumus struktur testostosterone. ....	6
Gambar 2. Sel Leydig di dalam testis. ....	6
Gambar 3. Produksi testostosterone mulai fetal sampai dewasa.....	7
Gambar 4. Jalur steroidogenesis. ....	7
Gambar 5. Spermatogenesis. ....	9
Gambar 6. Tahap perkembangan spermatogenesis tikus. ....	10
Gambar 7. Prekursor ABP maupun SHBG pada tikus dan manusia.....	15
Gambar 8. Urutan asam amino <i>sex hormone binding globulin</i> (SHBG) manusia. ....	17
Gambar 9. Model interaksi antara steroid, SHBG dan reseptor SHBG. ....	19
Gambar 10. Perubahan kadar testosteron total dan <i>sex hormone binding globulin</i> pada diet protein tinggi dengan diet karbohidrat tinggi. ....	21
Gambar 11. Perubahan kadar testosteron total dan <i>sex hormone binding globulin</i> pada diet protein tinggi dengan diet karbohidrat tinggi. ....	22
Gambar 12. Gen <i>sex hormone binding globulin</i> (SHBG) manusia. ....	24
Gambar 13. Mutasi titik pada ekson 8 gen <i>sex hormone binding globulin</i> (SHBG) manusia. ....	25
Gambar 14. Hasil elektroforesis dan <i>western blotting sex hormone binding globulin</i> (SHBG) manusia. ....	26
Gambar 15. Hasil <i>western blotting sex hormone binding globulin</i> (SHBG) manusia. ....	26
Gambar 16. Hasil <i>western blotting sex hormone binding globulin</i> (SHBG) manusia normal dan varian dalam serum dan <i>Chinese hamster ovary</i> (CHO). ....	27
Gambar 17. Hasil <i>western blotting sex hormone binding globulin</i> (SHBG) normal. ....	27

## Daftar Tabel

Tabel 1. Kadar testosteroone total manusia .....	11
Tabel 2. Persentase ikatan testosteroone bebas dengan protein plasma darah manusia .....	11
Tabel 3. Kadar testosteron bebas manusia .....	12
Tabel 4. Indeks testosteron bebas manusia .....	13
Tabel 5. Komposisi SHBG manusia .....	16
Tabel 6. Berat molekul SHBG .....	18
Tabel 7. Kadar SHBG manusia .....	20
Tabel 8. Efek terapi testosteron pada pria defisiensi gonadotropin .....	21
Tabel 9. Kadar SHBG antara pria omnivore dengan pria vegetarian .....	23

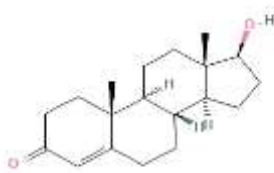
# BAB I.

## TESTOSTERON

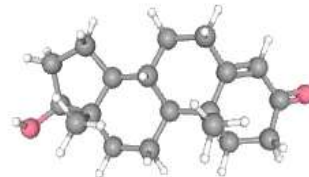
### 1. Molekul Testosterone

Testosterone merupakan androstanoid dengan gugus 17beta-hidroksi dan 3-okso. Pada atom C-4 dan C-5 menunjukkan sifat ketidak jenuhan. Testosterone berperan sebagai androgen, merupakan metabolit manusia, metabolit *Daphnia magna*, dan juga metabolit pada tikus. Testosterone dibuktikan sebagai steroid 17-beta-hidroksi, androstanoid, steroid C19, dan steroid 3-okso-Delta.

Rumus molekul testosterone yaitu:  $C_{19}H_{28}O_2$ , rumus strukturnya disajikan pada gambar 1.



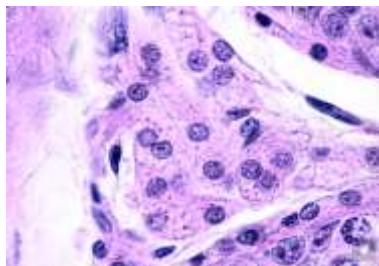
A.



B.

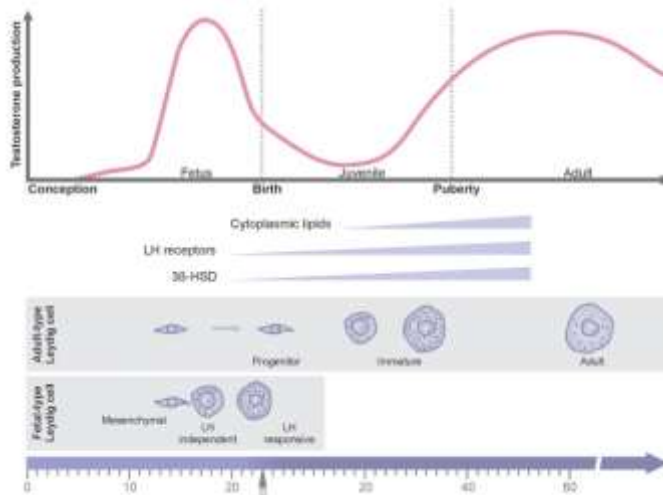
Gambar 1. Rumus struktur testosterone. A. struktur 2 dimensi. B. struktur 3 dimensi. Sumber: PubChem (2024).

Pada hewan vertebrata termasuk manusia, testosterone diproduksi oleh sel Leydig di dalam testis. Testosterone di dalam testis inilah yang disebut testosterone intratestikuler. Sel Leydig pada manusia tampak sebagai sekelompok sel interstisial di testis. Sel-sel ini merupakan sel polihedral dengan sitoplasma eosinofilik yang memperlihatkan butiran pigmen. Sel Leydig di dalam testis disajikan pada gambar 2.



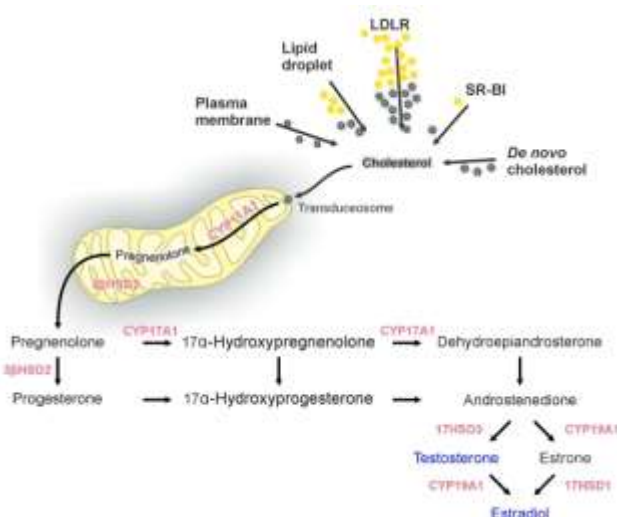
Gambar 2. Sel Leydig di dalam testis. Sumber: <http://www.dreamstime.com/leydig-cells-human-testicle-high-magnification-micrograph-group-interstitial-leydig-cells-testis-image117239578>

Produksi testosteron mulai fetal sampai usia dewasa memperlihatkan kadar yang berbeda. Produksi testosterone mulai fetal sampai dewasa disajikan pada gambar 3.



Gambar 3. Produksi testosteron mulai fetal sampai dewasa. Sumber: Zirkin, et al., (2018).

Pada sel Leydig, androgen berasal dari kolesterol. Kolesterol berasal dari sintesis de novo, lipoprotein, tetesan lipid, atau membran plasma. Lipoprotein, LDL, HDL, dan lipid yang mengandung kolesterol teresterifikasi dapat digunakan dalam steroidogenesis setelah de-esterifikasi. Kolesterol di dalam mitokondria bagian dalam mengalami metabolisme menjadi pregnenolon. Pregnenolon di mitokondria dan reticulum endoplasma setelah melewati beberapa tahap diubah menjadi androgen sebagai metabolit dari sel Leydig. Untuk lebih jelasnya perhatikan jalur steroidogenesis berikut pada gambar 4.



Gambar 4. Jalur steroidogenesis. Sumber: Zirkin, et al., (2018).

## 2. Fungsi testosteron

Androgen adalah steroid yang mengatur sekresi gonadotropin dan spermatogenesis. Androgen dan progesteron merupakan steroid. Kedua hormon tersebut yang diberikan secara bersamaan terhadap pria dewasa, maka produksi hormon gonadotropin terhambat. Terjadinya proses tersebut dengan mekanisme umpan balik negatif (*negative feedback mechanism*). Hal tersebut mengakibatkan proses spermatogenesis terganggu. Fakta tersebut dimanfaatkan dalam KB pria. Meskipun ada gangguan spermatogenesis dari kombinasi testostosterone dan progesterone, namun libido dan potensi seks pria dapat dipertahankan dengan adanya androgen eksogen. Contoh androgen yaitu testosteron.

Testosteron berfungsi antara lain:

- a. beraksi dalam pertumbuhan ciri kelamin pria.
- b. spermatogenesis di dalam testis
- c. mempertahankan kegairahan seksual
- d. meningkatkan pertumbuhan massa otot
- e. meningkatkan pertumbuhan dan kepadatan tulang
- f. menurunkan massa lemak tubuh
- g. meningkatkan pertumbuhan rambut di tubuh dan wajah
- h. meningkatkan produksi sel darah merah.

Testosteron mengendalikan proses spermatogenesis. Peran testosteron dalam spermatogenesis dikendalikan oleh hipotalamus, maupun hipofisis.

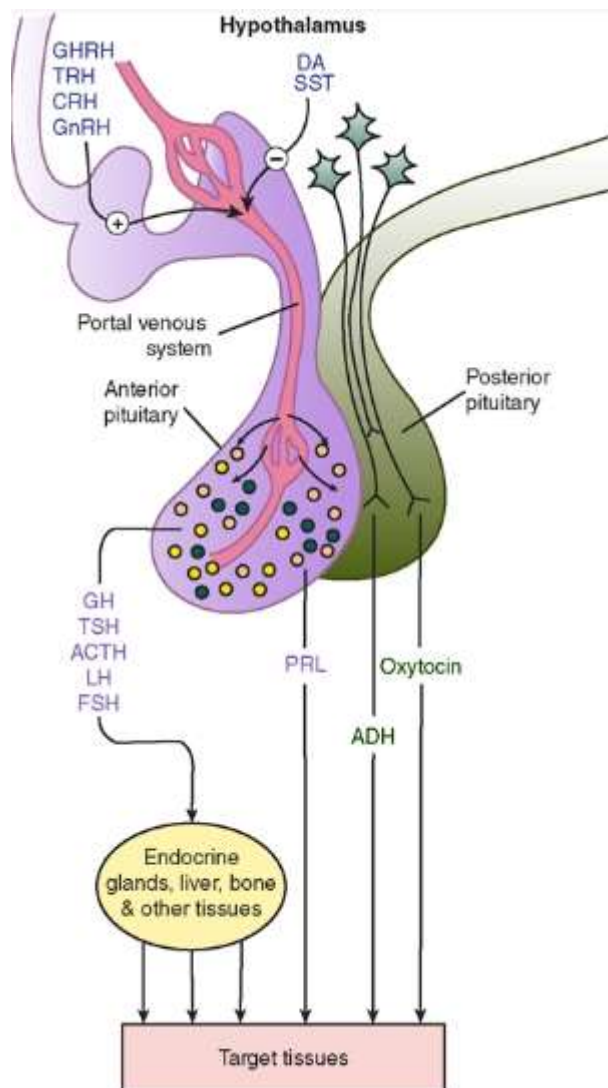
Hipotalamus menghasilkan GnRH (*gonadotropin releasing hormone*) atau FSH/LH-RH (*follicle stimulating hormone/luteinizing hormone-releasing hormone*). GnRH merupakan kunci regulasi sekresi gonadotropin, reproduksi dan tingkah laku seksual. Gonadotropin berfungsi merangsang LH (Luteinizing hormone) dan FSH (Follicle stimulating hormone). LH berfungsi merangsang produksi hormon testosteron di dalam testis.

FSH merangsang sel Sertoli untuk memproduksi ABP (*androgen binding protein*). ABP berfungsi untuk mengangkut androgen dari jaringan interstisial ke epitel germinal



melalui sel Sertoli. Selain itu ABP juga mempercepat pengangkutan androgen dari testis ke epididimis. Di dalam epididimis, androgen digunakan untuk proses pematangan spermatozoa secara bertahap.

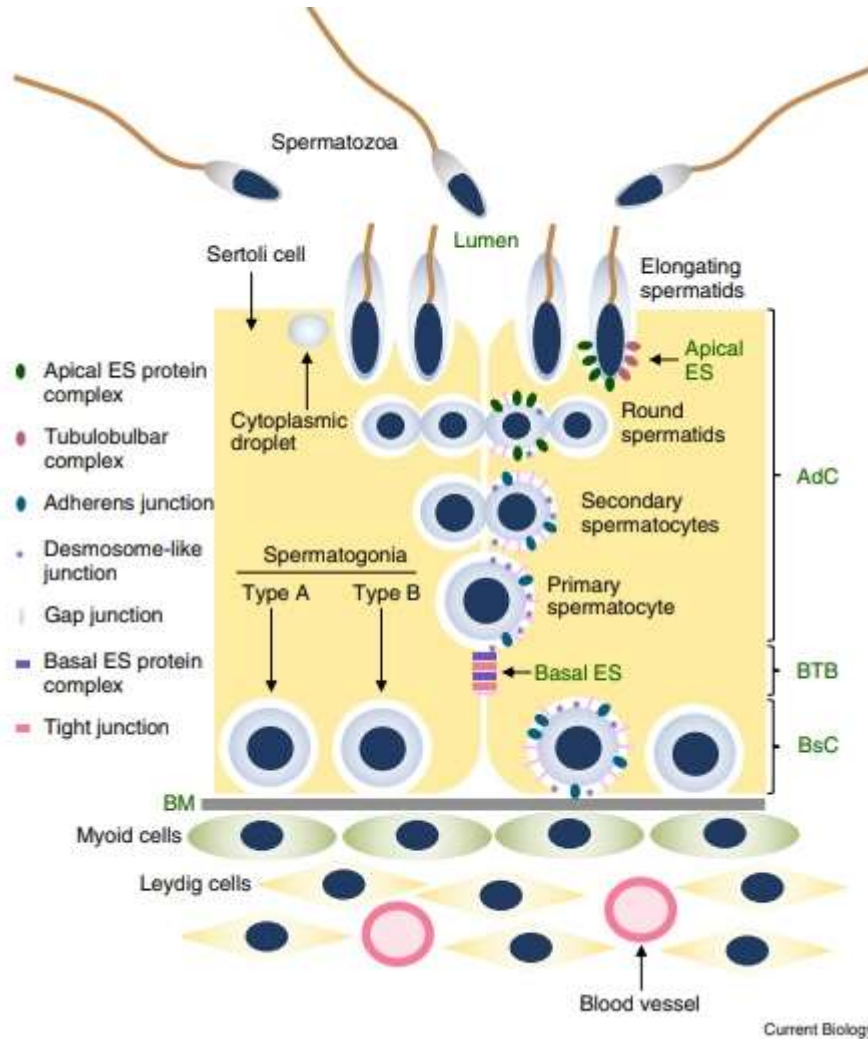
FSH juga berfungsi untuk memelihara pertumbuhan sel-sel spermatogenik dan meningkatkan sensitivitas sel Leydig terhadap LH dalam memproduksi testosteron (steroidogenesis). FSH diperlukan untuk memulai spermatogenesis tahap mitosis dan menyempurnakan spermatogenesis pada langkah-langkah dalam spermiogenesis dan spermiasi. Skema spermatogenesis disajikan pada gambar 5.



Gambar 5. Spermatogenesis.

Sumber: <http://accesspharmacy.mhmedical.com/content.aspx?bookid=514&sectionid=41817554>

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa perkembangan dalam spermatogenesis memerlukan testosteron. Ada beberapa tahap dalam spermatogenesis mulai dari spermatogonia sampai terbentuknya spermatozoa. Tahap perkembangan dalam spermatogenesis tikus disajikan pada gambar 6.



Gambar 6. Tahap perkembangan spermatogenesis tikus. Sumber: Nishimura et al. (2017)

### 3. Kadar testosteron

Telah dijelaskan di depan bahwa testosteron disintesis di dalam testis oleh sel Leydig. Testosteron di dalam testis digunakan untuk spermatogenesis, dan Sebagian testosteorone yang tidak digunakan untuk spermatogenesis disekresikan kedalam sirkulasi, ada juga yang ditransfor ke dalam epididimis untuk proses pematangan spermatozoa secara bertahap. Testosteron total merupakan jumlah seluruh

testosteron di dalam plasma darah (*total testosterone*). Kadar testostosterone total disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar testostosterone total manusia

No.	Pustaka	Subyek	Kadar testostosterone total	
			nmol/L	ng/dL
1.	Cunningham <i>et al.</i> , 1985	43 wanita normal (plasma) 18 – 25 tahun	1.18 – 1.28	33.71 – 36.57
2.	Wilke & Utley (1987)	37 wanita normal (serum)	0.9 – 2.1	26.08 – 60.86
3.	DPC <sup>b</sup> (1999)	81 wanita (serum) * normal * postmenopause	...? – 2.83 0.14 – 2.59	...? – 81 4.0 – 74
4.	Pasquali <i>et al.</i> (1995)	<b>6 pria normal</b> (serum) 22 – 31 tahun	9.6 – 18.8	274.28 – 537.13
5.	Haffner <i>et al.</i> (1996)	<b>87 pria normal</b> (serum) 43 – 64 tahun	1.8 – 13.3	52.17 – 385.50
6.	DPC <sup>b</sup> (1999)	<b>87 pria</b> (serum) 20 – 49 tahun ≥ 50 tahun	8.57 – 64.26 6.33 – 27.02	245 – 1836 181- 772

Keterangan: nmol/L = nanomol per liter; ng/dL = nanogram per deciliter; DPC = *Diagnostic Products Corporation*. Sumber: Edy Parwanto (2004).

Di dalam plasma darah, testosteron total sebagian besar diikat oleh protein albumin, SHBG, CBG (*cortisol-binding globulin* = CBG). Ada testosteron dalam plasma darah yang tidak terikat oleh protein sehingga keberadaannya sebagai testostosterone bebas. Persentase ikatan antara testostosterone dengan protein dalam plasma darah manusia disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Persentase ikatan testostosterone bebas dengan protein plasma darah manusia

Testosteron Total	Testosteron yang terikat oleh			Testosteron Bebas	Peneliti
	SHBG	Albumin	CBG		
23 nmol/L	44.3%	49.9%	3.56%	2.23%	Dunn <i>et al.</i> (1981)
19.25 ± 1.75 nmol/L (550 ± 50 ng/dL)	56.7 ± 22.2%	46 ± 18%	-	1.95 ± 0.21%	Pugeat <i>et al.</i> (1984)

Keterangan: SHBG = *sex hormone binding globulin*; CBG = *cortisol binding globulin*; nmol/L = nanomol per liter; ng/dL = nano gram per desiliter. Sumber: Edy Parwanto (2004).

Berdasar data tentang distribusi testosteron plasma tersebut dapat disimpulkan adanya hubungan antara kadar testosteron total, testosteron bebas dan SHBG. Beberapa kisaran kadar testosteron bebas pada manusia disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Kadar testosteron bebas manusia

No.	Pustaka	Subyek	Kadar testosteron bebas	
			nmol/L	pg/mL
1.	Gates <i>et al.</i> (1996)	62 wanita (plasma)	0.0008 – 0.0020	0.231 – 0.579
2.	DPC <sup>c</sup> , 1999	41 wanita normal (serum)	...? – 0.0134	...? – 3.9
		27 wanita postmenopause (serum)	...? – 0.00621	...? – 1.8
3.	Hamalaine <i>n et al.</i> (1986)	<b>30 pria normal</b> (serum) 42 – 48 tahun	0.174 – 0.292	50.36 – 84.52
4.	Pasquali <i>et al.</i> (1995)	<b>6 pria normal</b> (serum) 22 – 31 tahun	0.0531 – 0.0905	15.34 – 26.19
5.	Haffner <i>et al.</i> (1996)	<b>87 pria normal</b> (serum) 43 – 64 tahun	0.0053 – 0.0331	1.53 – 9.58
6.	DPC <sup>c</sup> , 1999	<b>68 pria normal</b> (serum) 20 – 49 tahun	0.04278 – 0.138	12.4 – 40.0
		<b>19 pria normal</b> (serum) ≥ 50 tahun	0.03726 – 0.08487	10.8 – 24.6

Keterangan: nmol/L = nanomol per liter; pg/L = picogram per milliliter; DPC = Diagnostic Products Corporation; ...? = tidak terukur. Sumber: Edy Parwanto (2004).

Persentase testosteron bebas dari testosteron total :

- a. Pada wanita normal 0.04 – 3%
- b. Pada wanita *postmenopause* 0.07 – 1.2%
- c. Pada pria normal yang berumur 20 – 49 tahun 0.18 – 0,68%
- d. Pada pria berumur lebih dari 50 tahun 0.16 – 0.67%.

Dalam poros hipotalamus-hipofisis-testis, testosteron bebas berfungsi untuk mekanisme umpan balik negatif baik ke hipofisis maupun hipotalamus.

Mekanisme aksi testosteron bebas terhadap sel sasaran diperantarai oleh SHBG. Testosteron bebas berikatan terlebih dahulu dengan kompleks SHBG-R<sub>SHBG</sub> sehingga membentuk ikatan testosteron-SHBG-R<sub>SHBG</sub>. Ikatan tersebut terjadi pada membran sel sasaran.

Kadar testosteron bebas dalam plasma dapat diatur oleh SHBG. Karena kadar testosteron bebas dalam plasma diatur oleh SHBG, maka faktor-faktor yang mempengaruhi kadar SHBG juga ikut mempengaruhi kadar testosteron bebas.

Indeks testosteron bebas (ITB) merupakan perbandingan testosteron total dengan SHBG dikalikan 100. Indeks testosteron bebas digunakan untuk:

- a. menentukan status testosteroe
- b. menentukan adanya abnormalitas ikatan antara SHBG dengan testosteron.

Pada pria normal, nilai ITB yaitu 40 – 150, sedangkan pada wanita 0.8 – 4.9. ITB pada wanita hirsutisme berbeda dengan wanita normal. ITB pada pria defisiensi gonadotropin berbeda dengan pria normal. Nilai ITB pada manusia disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Indeks testosteron bebas manusia

Nomor	Subyek	Kadar zat dalam plasma darah		Indeks testosteron bebas
		Testosteron total nmol/L	SHBG nmol/L	
1.	43 wanita normal	1.18 – 1.28	39.8 – 44.4	2.88 – 3.30
2.	23 pria normal	-	22.5 – 25.3	79.70 – 93.30
3.	32 wanita hirsutisme	1.51 – 1.69**a	28.7 – 33.1**a	6.15 – 7.77**a
4.	4 pria defisiensi gonadotropin	0.42 – 0.70	27.7 – 32.7	2.17 – 2.35**b

Keterangan: SHBG = *sex hormone binding globulin*; nmol/L = nanomol per liter; \*\* a = berbeda sangat bermakna ( $p < 0.001$ ) dibanding wanita normal; \*\*b = berbeda sangat bermakna ( $p < 0.001$ ) dibanding pria normal. Sumber: Cunningham *et al.* (1985).

#### 4. Aksi testosteron terhadap sel target

Testosterone beraksi terhadap sel target dengan 2 cara, yaitu:

- a. Transduksi sinyal
- b. diufusi melintas membran sel, selanjutnya sampai ke DNA target.

## **BAB II.**

# **SEX HORMONE BINDING GLOBULIN**

### **1. Molekul Sex hormone binding globulin**

Sex hormone binding globulin (SHBG) sebelumnya dikenal dengan istilah sex steroid-binding protein (SBP). Pada pertemuan ke 6 kelompok studi internasional untuk hormon steroid (Roma) tahun 1969 menerima istilah SBP.

Beberapa istilah yang kemudian diperkenalkan sehubungan dengan SBP, antara lain:

- a. steroid-binding  $\beta$  globulin (SB  $\beta$  G)
- b. sex hormone-binding globulin (SHBG)
- c. testosterone-binding globulin
- d. testosterone-estradiol-binding globulin (TeBG)
- e. estradiol-binding protein (EBP)
- f. androgen binding protein (ABP)

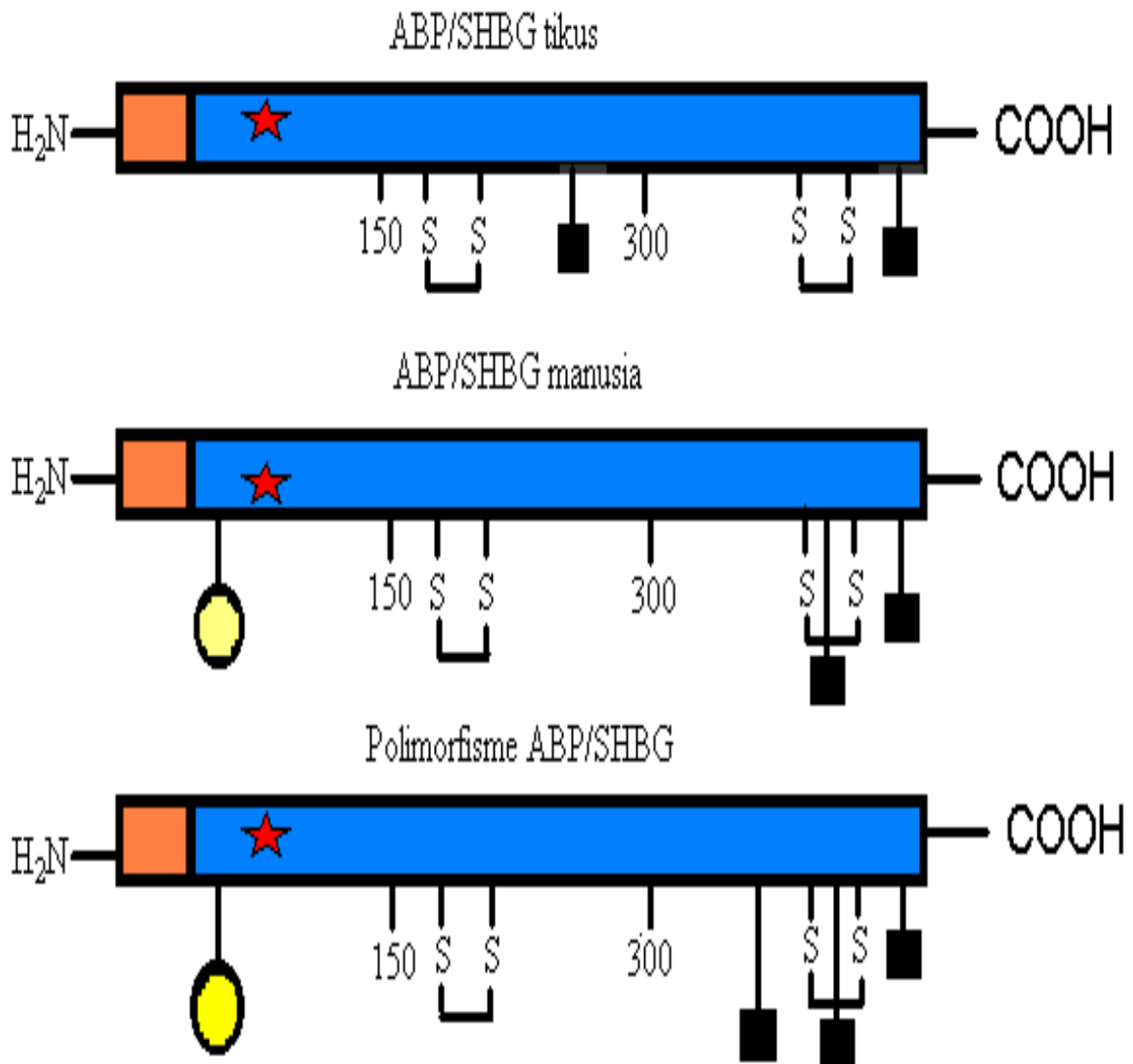
TeBG ternyata tidak tepat karena diketahui kemudian bahwa protein tersebut berikatan lebih baik dengan 5- $\alpha$  dehidrotestosteron (DHT) daripada testosteron ataupun 17  $\alpha$  -estradiol.

Ciri yang berkaitan dengan SHBG, yaitu:

- a. merupakan glikoprotein plasma
- b. disintesis oleh sel hepatosit
- c. bersifat reversible
- d. berafinitas tinggi untuk mengikat androgen dalam sirkulasi (DHT, testosteron, 3  $\alpha$ -androstenediol)
- e. berafinitas rendah untuk mengikat estrogen aktif maupun estradiol
- f. diproduksi oleh sel hepatosit

Sel Sertoli memproduksi SHBG testis, oleh karena itu disebut ABP (androgen binding protein).

Molekul SHBG fungsional dibentuk dari precursor SHBG yang diproduksi oleh hepatosit. Prekursor ABP maupun SHBG disajikan pada gambar 7.



Gambar 7. Prekursor ABP maupun SHBG pada tikus dan manusia. Prekursor ABP/SHBG yang mengandung residu asam amino (403 asam amino). Jumlah tersebut termasuk sinyal peptida ( ■ ). Ada 2 jembatan disulfida yaitu sistein 164 dengan sistein 188 dan sistein 333 dengan sistein 361). Pada SHBG manusia ada 2 macam glikosilasi yaitu glikosilasi O dan glikosilasi N. Glikosilasi O (*O-glycosylation*) pada treonin 7 ( ● ). Glikosilasi N (*N-glycosylation*) pada 2 tempat yaitu asparagin 351 dan asparagin 367 ( ■ ). Pada ABP/SHBG tikus tidak ada glikosilasi O. Daerah ikat reseptor (*receptor-binding region*) ditunjukkan oleh tanda ★. Sumber: Joseph (1994).

Komponen SHBG yaitu karbohidrat (sebagian kecil) dan asam amino (Sebagian besar). Jumlah komponen karbohidrat penyusun SHBG kurang lebih 14%. SHBG manusia telah dianalisis, dan hasilnya disajikan pada table 5.

Tabel 5. Komposisi SHBG manusia

<b>Komponen</b>	<b>Mol/mol dimer SHBG</b>		<b>Komponen</b>	<b>Mol/mol dimer SHBG</b>	
Sistein	7.6 <sup>a</sup>	7.6 <sup>b</sup>	Tirosin	6.0 <sup>a</sup>	4.4 <sup>b</sup>
Asam aspartat	60.8 <sup>a</sup>	63.8 <sup>b</sup>	Fenilalanin	20.6 <sup>a</sup>	23.0 <sup>b</sup>
Threonin	35.9 <sup>a</sup>	29.6 <sup>b</sup>	Histidin	20.9 <sup>a</sup>	24.0 <sup>b</sup>
Serin	64.0 <sup>a</sup>	59.2 <sup>b</sup>	Lisin	24.5 <sup>a</sup>	24.2 <sup>b</sup>
Asam glutamate	70.0 <sup>a</sup>	72.6 <sup>b</sup>	Arginin	30.2 <sup>a</sup>	36.6 <sup>b</sup>
Prolin	55.6 <sup>a</sup>	68.4 <sup>b</sup>	Triptofan	22.0 <sup>a</sup>	22.0 <sup>b</sup>
Glisin	73.0 <sup>a</sup>	73.2 <sup>b</sup>	Manosa	11.3 <sup>a</sup>	11.3 <sup>b</sup>
Alanin	46.1 <sup>a</sup>	53.4 <sup>b</sup>	Galaktosa	13.6 <sup>a</sup>	13.6 <sup>b</sup>
Valin	35.9 <sup>a</sup>	39.6 <sup>b</sup>	n-asetilglukosamin	19.4 <sup>a</sup>	19.4 <sup>b</sup>
Metionin	7.7 <sup>a</sup>	10.4 <sup>b</sup>	n-asetilgalaktosamin	3.0 <sup>a</sup>	3.0 <sup>b</sup>
Isoleusin	19.3 <sup>a</sup>	19.8 <sup>b</sup>	Fukosa	1.1 <sup>a</sup>	1.1 <sup>b</sup>
Leusin	90.2 <sup>a</sup>	116.0 <sup>b</sup>	Asam sialat	9.6 <sup>a</sup>	9.6 <sup>b</sup>

Keterangan: a = perhitungan komposisi SHBG oleh Turner *et al.* (1984) berdasar pada polipeptida dimerik dengan berat molekul 75 680 Dalton; b = perhitungan komposisi SHBG oleh Petra *et al.* (1986) berdasar pada polipeptida dimerik dengan berat molekul 73 616 Dalton. Dibandingkan dengan gambar 4, asparagin sebagai komponen SHBG pada tabel ini belum tampak.

#### Karakteristik molekul SHBG plasma yang fungsional

- a. berbentuk dimer
- b. jika mengalami disosiasi menjadi monomer atau subunit
- c. subunit SHBG manusia terdiri atas 373 residu asam amino (40.509 kDa)
- d. sinyal peptidanya 29 residu asam amino.
- e. bagian ikat steroid (steroid binding site) berlokasi antara sub-unit SHBG
- f. dimerisasi dari 2 subunit sangat penting sebagai fungsi SHBG untuk mengikat steroid
- g. satu molekul SHBG membentuk dimer dan berikatan dengan 1 molekul steroid
- h. metionin 139 pada SHBG manusia merupakan komponen penting dari bagian ikat steroid.
- i. SHBG memiliki urutan asam amino yang sama dengan ABP
- j. SHBG dan ABP merupakan produk gen yang sama
- k. protein SHBG mengalami glikosilasi, yaitu modifikasi protein dengan cara menambah atau mengikat rantai karbohidrat berupa oligosakarida.
- l. glikosilasi pada SHBG manusia ada 2 macam, yaitu glikosilasi O dan glikosilasi N.
- m. SHBG yang mengalami glikosilasi O terjadi ikatan oligosakarida pada atom O molekul serin atau treonin (O-glycosilation)
- n. Glikosilasi N (N-glycosylation) pada SHBG terjadi penambahan molekul



oligosakarida yang terikat pada atom nitrogen (N) molekul asparagin (N-linked glycosilation = asparagines-linked glycosilation).

- o. Glikosilasi O SHBG manusia terjadi pada molekul treonin 7 tetapi pada tikus tidak ada glikosilasi O.
- p. Glikosilasi N SHBG manusia dengan fenotip SHBG normal (wild-type SHBG) terjadi pada molekul asparagin 351 dan 367, sedangkan pada individu dengan fenotip SHBG varian terjadi penambahan glikosilasi N pada molekul asparagin 327.
- q. Subunit SHBG mengandung 4 molekul sistein, yaitu sistein 164, 188, 333 dan 361. Pada SHBG manusia yang fungsional, molekul sistein 164 membentuk ikatan disulfida dengan sistein 188, demikian juga antara sistein 333 dengan sistein 361.
- r. Ikatan disulfida tersebut menyebabkan molekul SHBG menjadi mantap

Urutan asam amino pada SHBG manusia disajikan pada gambar 8.

-29	MESRGPLATSRLLLLLLLLLLRHTRQGWAH <sup>a</sup> RPVLPTQSAHDPPAVHLSN	20
21	GPGQEPIAVMTFDLTKITKTSSSFVVRTWDPEGVIFYGDTNPKDDWFMLG	70
71	LRDGRPEIQLHNHWAQLTVGAGPRLDDGRWHQVEVKMEGDSVLLLEVDGEE	120
121	VLRLRQVSGPLTSKRHPIMRIALGGLLFPASNLRLPLVPALDGC <sup>*</sup> LRRDSW	170
171	LDKQAEISASAPTSRSC <sup>*</sup> DVESNPGIFLPPGTQAEFNLRDIPQPHAEPWA	220
221	FSLDLGLKQAAGSGHLLALGTPENPSWLSLHLQDQKVVLSSGSGPGLDLP	270
271	LVLGLPLQLKLSMSRVVLSQGSKMKALALPPLGLAPLLNLWAKPQGRLFL	320
321	GALPGEDSSTSFC <sup>*</sup> LNGLWAQQQRLDVDQALNRSHEIWITHSC <sup>*</sup> PQSPGNGTD	370
371	ASH	373

Gambar 8. Urutan asam amino *sex hormone binding globulin* (SHBG) manusia.

A = alanin; C = sistein; D = asam aspartat; E = asam glutamat; F = fenil alanin; G = glisin; H = histidin; I = iso-leusin; K = lisin; L = leusin; M = metionin; N = asparagin; P = prolin; Q = glutamin; R = arginin; S = serin; T = treonin; V = valin; W = triptofan; Y = tirosin; H<sup>a</sup> = histidin nomor 1 pada SHBG matang (hasil determinasi *sequencing* asam amino oleh Damassa *et al.* (1996); T = treonin nomor 7, tempat glikosilasi O; N 351 dan 367 = tempat glikosilasi N; \* = ikatan disulfida antara sistein 164 – 188 dan sistein 333 – 361.

## 2. Berat Molekul SHBG

Pengukuran berat molekul SHBG pada teknik elektroforesis dan *western blotting* dilakukan dengan membandingkan BM SHBG dengan protein standard BM. Protein dimer SHBG pada kondisi terdenaturasi pecah menjadi monomer. Monomer SHBG tersebut dibandingkan dengan protein standar BM. Cara lain untuk menentukan BM SHBG dapat dilakukan antara lain dengan spektrofotometer massa. BM monomer SHBG dari hasil pengukuran oleh beberapa peneliti disajikan pada tabel 6.

Tabel 6. Berat molekul SHBG

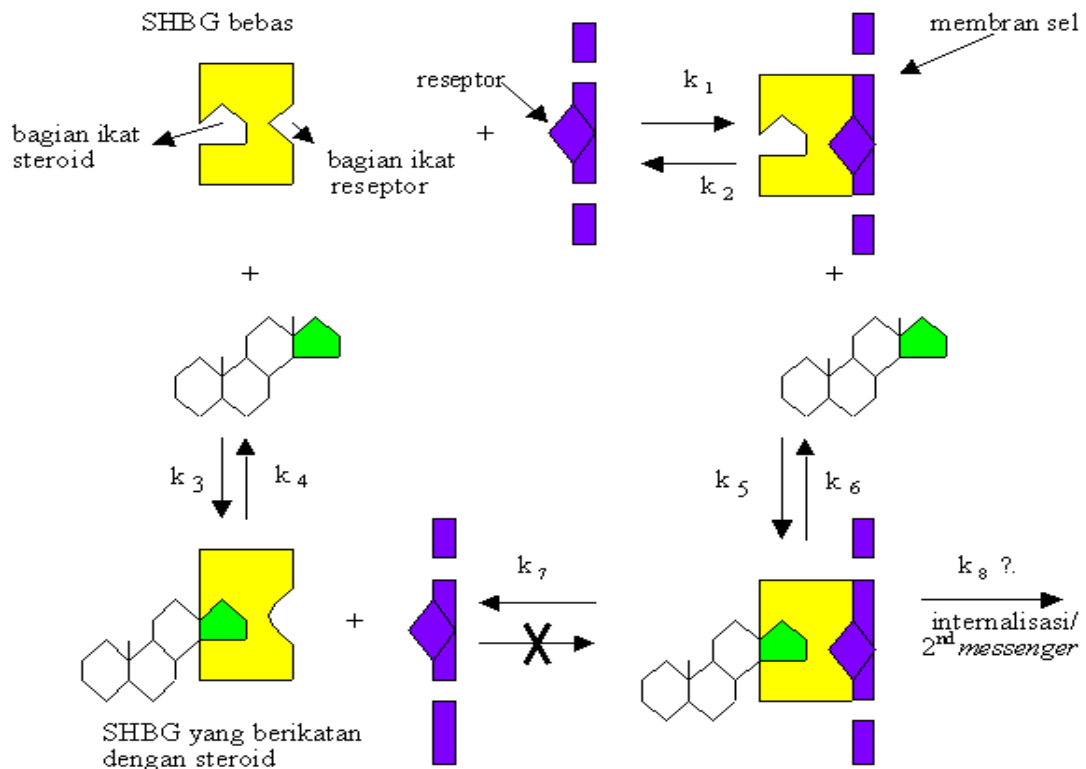
Nomor	Peneliti	Berat molekul monomer SHBG
1.	Turner <i>et al.</i> (1984); Petra <i>et al.</i> (1986).	44 kDa
2.	Gershagen <i>et al.</i> (1987b); Van Baelen <i>et al.</i> (1992).	2 pita: 49 kDa dan 52 kDa
3.	Gershagen <i>et al.</i> (1987b); Van Baelen <i>et al.</i> (1992).	3 pita: 49 kDa, 52 kDa dan 56 kDa
4.	Power <i>et al.</i> (1992)	SHBG manusia yang diekspresikan oleh sel ovarium hamster china ( <i>Chinese hamster ovary cells = CHO cells</i> ) : 48 kDa, 52 kDa dan 60 kDa.
5.	Bocchinfuso <i>et al.</i> (1992); Power <i>et al.</i> (1992); Cornelisse <i>et al.</i> (1994); Cousin <i>et al.</i> (1998).	SHBG normal homozigot : 48 kDa dan 52 kDa SHBG varian heterozigot : 48 kDa, 52 kDa dan 56 kDa. SHBG varian homozigot : 48 kDa, 52 kDa dan 56 kDa.
6.	Sui <i>et al.</i> (1999)	SHBG manusia yang mengalami deglikosilasi, diekspresikan oleh <i>Pichia pastoris</i> , diukur dengan spektrofotometer massa: $39.7178 \pm 10.4$ kDa.

Keterangan: kDa = kilo Dalton.

## 3. Molekul SHBG dan aksi steroid

SHBG dalam plasma darah berperan penting dalam menentukan kadar hormon steroid dan aktivitas biologisnya. SHBG memiliki 2 aktivitas biologis, yaitu mengikat androgen dan estrogen serta mengatur kadar steroid dalam plasma. Kadar steroid plasma diatur oleh SHBG dengan cara berikatan ke reseptor membran sel. Steroid plasma sebagian besar berikatan dengan SHBG. Sebagian lagi steroid bebas dalam plasma akan berikatan dengan kompleks reseptor SHBG dengan SHBG

(RSHBG-SHBG) pada membran sel. Steroid yang terikat tersebut akan mengaktifkan RSHBG-SHBG. Model interaksi antara steroid, SHBG dan reseptor membran tampak pada gambar 9.



Gambar 9. Model interaksi antara steroid, SHBG dan reseptor SHBG.

Pada model tersebut afinitas DHT-SHBG = kompleks reseptor-SHBG.  $k_3/k_4 = k_5/k_6$ ,  $k_1 \ll k_3$ ,  $k_2 \ll k_4$  dan  $k_2 = k_7$ .

SHBG = sex hormone binding globulin, DHT = 5 $\alpha$ -dehidrotestosteron, k = konstanta  
 Sumber: Hryb et al., 1990.

Waktu paruh disosiasi RSHBG-SHBG lebih dari 50 jam dan dapat menginduksi pembentukan second messenger (2nd messenger) dan atau ditranslokasi ke dalam sel. Pada suhu 0 oC, waktu paruh ikatan antara SHBG dengan DHT pada manusia 30 – 60 menit dan ikatan antara ABP dengan DHT pada tikus 5 – 6 menit.

DHT maupun testosteron menghambat SHBG untuk berikatan dengan RSHBG, namun daya hambat DHT tersebut lebih besar dibandingkan dengan testosteron.

Kompleks steroid-SHBG-RSHBG selanjutnya mengaktifkan protein G (Nakhla et al., 1999). Protein G yang difosforilasi mengalami perubahan konformasi sehingga menjadi aktif. Perubahan konformasi protein G penting untuk mengaktifkan adenil

siklase. Setiap adenil siklase yang diaktifkan mengubah adenosine triphosphate (ATP) menjadi cyclic adenosine monophosphate (cAMP). Jadi aktifnya protein G mengakibatkan cAMP intraseluler meningkat cepat. Peningkatan cAMP tersebut mengaktifkan sistem intraseluler. Molekul cAMP kemudian mengaktifkan kinase-A.

#### 4. Kadar SHBG

Kadar SHBG dipengaruhi antara lain oleh:

- a. banyak sedikitnya sekresi SHBG oleh sel hepar
- b. jenis kelamin
- c. umur
- d. status hormon
- e. status gizi, termasuk indeks massa tubuh
- f. kondisi patologis
- g. faktor genetik

Kadar SHBG disajikan pada table 7.

Tabel 7. Kadar SHBG manusia

Pustaka	Subyek	Kisaran	
		nmol/L	mg/L
Anderson (1974)	34 wanita normal (plasma)	42.2 – 113	3.97 – 10.62
Cunningham <i>et al.</i> (1985)	43 wanita normal (plasma)	39.8 – 44.4	3.74 – 4.17
Wilke & Utley (1987)	37 wanita normal (serum)	26.1 – 68.3	2.45 – 6.42
DPC <sup>a</sup> (1999).	111 wanita normal (serum)	16 – 120	1.50 – 11.28
Anderson (1974)	<b>22 pria normal (plasma)</b>	18.5 – 55.3	1.74 – 5.20
Cunningham <i>et al.</i> (1985)	<b>23 pria normal (plasma)</b>	22.5 – 25.3	2.11 – 2.37
Hamalainen <i>et al.</i> (1986)	<b>30 pria normal (serum)</b>	25.6 – 54.2	2.40 – 5.09
Pasquali <i>et al.</i> (1995)	<b>6 pria normal (serum)</b>	14.5 – 19.5	1.36 – 1.83
Haffner <i>et al.</i> (1996)	<b>87 pria normal (serum)</b>	1.4 – 104.3	0.13 – 9.80
DPC <sup>a</sup> (1999).	<b>122 pria normal (serum)</b>	10 – 73	0.94 – 6.86

Keterangan: nmol/L = nanomol per liter; mg/L = milligram per liter; DPC = *Diagnostic Products Corporation*.

Apabila seseorang diterapi testosterone, maka mempengaruhi kadar SHBG. Efek terapi testosteron pada pria defisiensi gonadotropin disajikan pada tabel 8.

Tabel 8. Efek terapi testosteron pada pria defisiensi gonadotropin

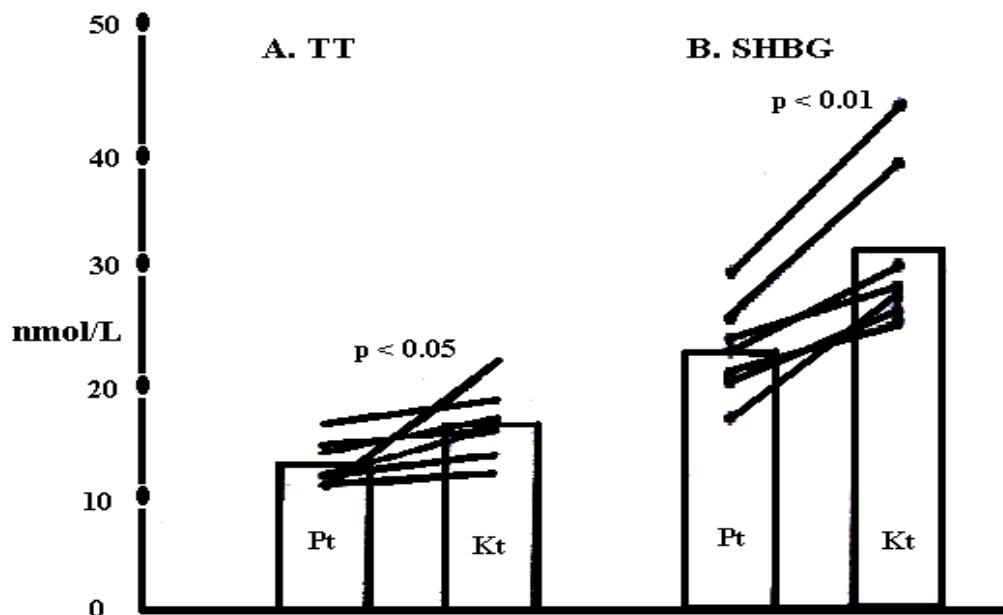
Sebelum terapi			Sesudah terapi		
Umur (tahun)	Testosteron (nmol/L)	SHBG (nmol/L)	Umur (tahun)	Testosteron (nmol/L)	SHBG (nmol/L)
20	0.9	19.6	20 <sup>2/12</sup>	38.0	16.2
18 <sup>6/12</sup>	0.6	25.3	18 <sup>7/12</sup>	24.6	19.4
17	0.4	23.7	17 <sup>8/12</sup>	15.7	17.2
15 <sup>1/12</sup>	0.3	42.2	16 <sup>3/12</sup>	21.7	14.6

Keterangan: nmol/L = nanomol per liter.

Sumber: Cunningham *et al.* (1985).

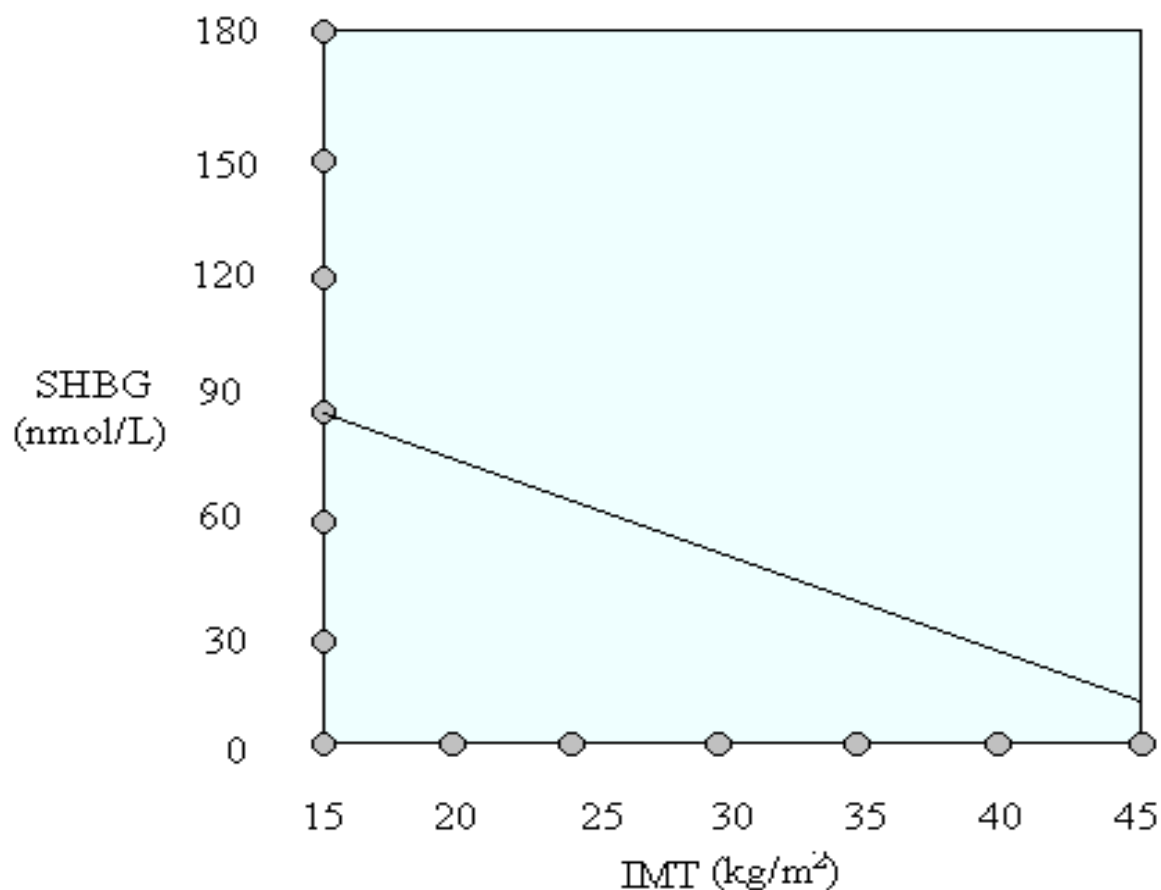
Diet tinggi protein mempengaruhi kadar SHBG. Rasio asupan protein karbohidrat dalam diet merupakan faktor penting yang mengatur kadar hormon steroid plasma dan produksi protein pengikat hormon oleh hati.

Perubahan kadar testosteron dan SHBG pada diet protein tinggi dan diet karbohidrat tinggi disajikan pada gambar 10.



Gambar 10. Perubahan kadar testosteron total (TT) dan *sex hormone binding globulin* (SHBG) pada diet protein tinggi dengan diet karbohidrat tinggi. Sumber: Anderson (1987).

Diet seseorang mempengaruhi IMT, dan IMT mempengaruhi kadar SHBG. Hasil penelitian juga memperlihatkan bahwa protein berpengaruh terhadap kadar SHBG. Kenaikan IMT menurunkan kadar SHBG. Dengan demikian kadar SHBG berkorelasi negatif dengan IMT. IMT yang semakin meningkat, kadar SHBG semakin menurun. Hubungan antara penurunan kadar SHBG dengan peningkatan IMT disajikan pada gambar 11.



Gambar 11. Hubungan antara penurunan kadar *sex hormone-binding globulin* (SHBG) dengan peningkatan *indeks masa tubuh* (IMT) pada manusia (Lapidus *et al.*, 1986).

Hasil penelitian yang menunjukkan adanya perbedaan kadar SHBG dan indeks testosteron bebas antara pria omnivor dengan pria vegetarian. Pada penelitian tersebut, kadar testosteron total antara pria omnivor dengan pria vegetarian tidak berbeda. Kadar SHBG pada kelompok vegetarian lebih tinggi daripada kelompok omnivor, tetapi indeks testosteron bebasnya lebih rendah.

Hasil penelitian lain memperlihatkan perbedaan kadar SHBG antara pria omnivore dengan pria vegetarian yang disajikan pada table 9.

Tabel 9. Kadar SHBG antara pria omnivore dengan pria vegetarian

Nomor	SHBG, TB dan ITB	Subyek	Hari pertama Pukul 08.00	Hari kedua Pukul 08.00
1.	SHBG (nmol/L)	Pria omnivor (14 subyek)	24.8 ± 1.7	23.5 ± 2.9
		Pria vegetarian (15 subyek)	34.5 ± 2.8 **	36.4 ± 4.4 *
2.	Testosteron total (nmol/L)	Pria omnivor (14 subyek)	19.4 ± 1.4	18.0 ± 1.4
		Pria vegetarian (15 subyek)	22.88 ± 2.7	24.6 ± 2.7
3.	ITB	Pria omnivor (14 subyek)	0.79 ± 0.06	0.86 ± 0.07
		Pria vegetarian (15 subyek)	0.61 ± 0.03 **	0.63 ± 0.07 **

Sumber: Belanger *et al.* (1989).

# BAB III.

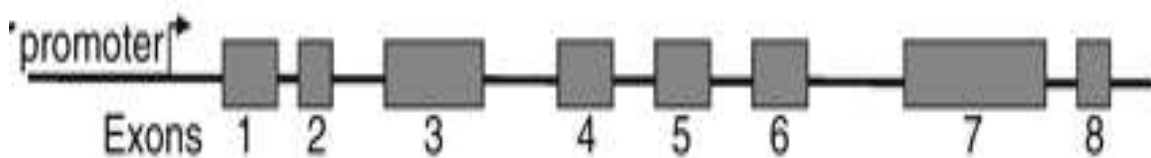
## GEN DAN POLIMORFISME SHBG

### 1. Gen SHBG

Gen SHBG ditengarai sebagai berikut:

- a. dikode oleh 4.3 kb (kilo basa)
- b. terdiri atas 8 ekson
- c. letaknya pada daerah lengan pendek p12 – p13 kromosom 17
- d. ekson 1 pada gen SHBG manusia mengandung seri pengkode (*coding sequence*) untuk mensekresi sinyal polipeptida
- e. ekson 2 – 8 mengkode 2 bagian LG (*laminin G-like domains = LG-like domains*)
- f. Ujung-amino dari bagian LG dikode oleh ekson 2 – 4 yang mengandung bagian ikat steroid dan bagian yang membentuk dimmer dan beberapa bagian ikat kation
- g. Ujung-karboksil bagian LG kurang mantap, bagian ini yang normal hanya mengandung 2 bagian glikosilasi N.

Gambar gen SHBG manusia disajikan pada gambar 12.



Gambar 12. Gen *sex hormone binding globulin* (SHBG) manusia.

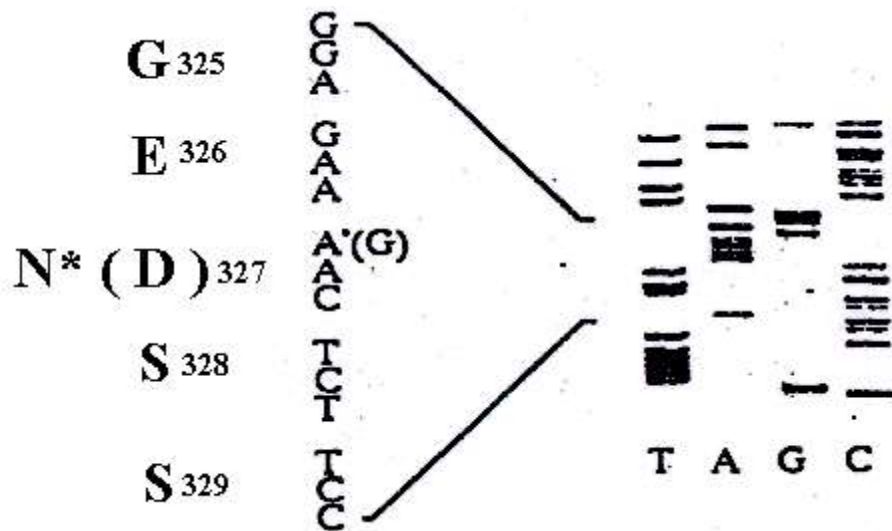
↑ = awal transkripsi Sumber : Hogeveen *et al.* (2002).

### 2. Polimorfisme SHBG

SHBG memiliki variasi antar individu dalam hal ukuran (berat molekul = BM). Polimorfisme SHBG terjadi karena mutasi titik pada ekson 8, yaitu kodon 327 dari GAC menjadi AAC. Perubahan kodon tersebut menyebabkan penggantian susunan



asam amino dari aspartat menjadi asparagin. Telah dijelaskan di depan bahwa asparagin merupakan tempat terjadinya glikosilasi N sehingga terjadi pengikatan molekul oligosakarida. Gambar mutasi titik pada ekson 8 gen SHBG disajikan pada gambar 13.

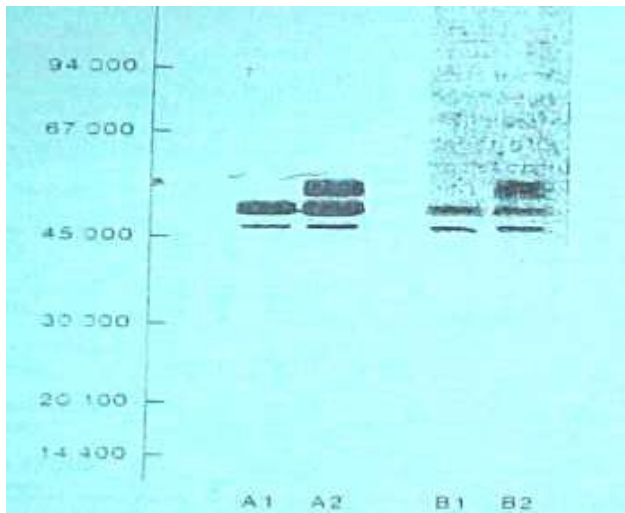


Gambar 13. Mutasi titik pada ekson 8 gen *sex hormone binding globulin* (SHBG) manusia. G 325 = glisin nomor 325; E 326 = asam glutamat nomor 326; N\* (D) 327 = asparagin (N) hasil mutasi dari aspartat (D) nomor 327; S 328 = serin nomor 328; S 329 = serin nomor 329; T = timin; A = adenine; G = guanin dan C = sitosin. Sumber: Power *et al.* (1992).

Ada 3 jenis fenotip SHBG yaitu, SHBG normal homozigot (*wild-type SHBG = W/W*), SHBG varian heterozigot (*heterozygous variant SHBG = W/v*) dan SHBG varian homozigot (*homozygous variant SHBG = v/v*). SHBG normal homozigot terdiri atas subunit ringan (*light subunit = L sub unit*) 48 kDa dan subunit berat (*heavy subunit = H sub unit*) 52 kDa. SHBG varian baik homozigot maupun heterozigot memiliki subunit sangat berat (*superheavy subunit = SH sub unit*) 56 kDa.

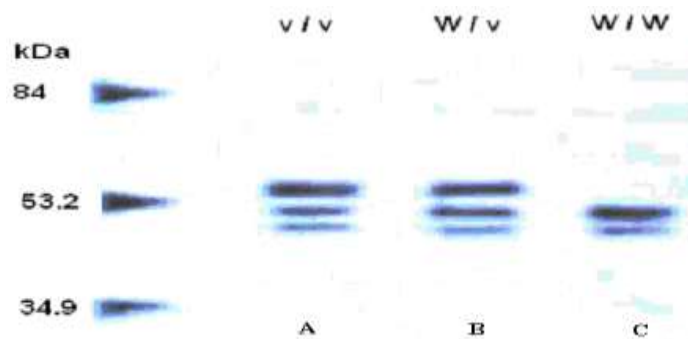
SHBG manusia yang dianalisis dengan elektroforesis gel poliakrilamid-sodium dodesil sulfat (*sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis = SDS-PAGE*) dan *western blotting* (WB) menunjukkan bahwa fenotip SHBG normal homozigot memperlihatkan 2 pita (*double banded*). Kedua pita SHBG tersebut terdiri

atas 2 subunit yang berbeda ukurannya, yaitu 49 dan 52 kDa dengan perbandingan 1 : 10. Fenotip SHBG varian homozigot dan heterozigot memperlihatkan 3 pita (*triple banded*). Ketiga pita tersebut menurut terdiri atas 49, 52 dan 56 kDa, hasil yang lain memperlihatkan terdiri atas 48, 52 dan 56 kDa. Gambar hasil elektroforesis dan *western blotting* SHBG tampak pada gambar 14, 15, 16, dan 17.



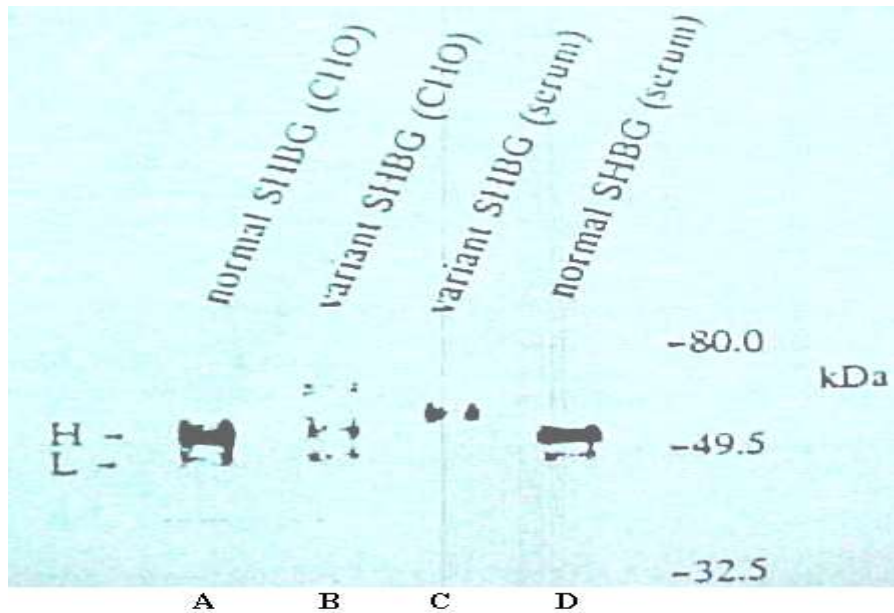
Gambar 14. Hasil elektroforesis dan *western blotting* sex hormone binding globulin (SHBG) manusia. Sumber: Gershagen *et al.* (1987b).

A1, B1 hasil elektroforesis dan *western blotting* SHBG 2 pita (49 dan 52 kilo Dalton/kDa); A2, B2 hasil elektroforesis dan *western blotting* SHBG 3 pita (49, 52 dan 56 kDa). Sumber: Gershagen *et al.* (1987b).



Gambar 15. Hasil *western blotting* sex hormone binding globulin (SHBG) manusia. Sumber: Cousin *et al.*, (1998).

- A. SHBG varian homozigot (v/v) 3 pita (48, 52 dan 56 kilo Dalton/kDa).
- B. SHBG varian heterozigot (W/v) 3 pita (48, 52 dan 56 kDa).
- C. SHBG normal homozigot (W/W) 2 pita (48 dan 52 kDa)



Gambar 16. Hasil *western blotting sex hormone binding globulin (SHBG)* manusia normal dan varian dalam serum dan *Chinese hamster ovary (CHO)*. Sumber: Power *et al.* (1992).

- A. SHBG manusia normal dalam CHO (48 dan 52 kilo Dalton/kDa).
- B. SHBG manusia varian dalam CHO (48, 52 dan 60 kDa).
- C. SHBG varian dalam serum manusia, tampak pita dengan BM 56 kDa).
- D. SHBG normal dalam serum manusia (48 dan 52 kDa)



Gambar 17. Hasil *western blotting sex hormone binding globulin (SHBG)* normal.

kDa = kilo Dalton. Sumber : Hogeveen *et al.* (2002).

Produk alel varian dari gen SHBG telah diidentifikasi dalam serum manusia (Gershagen *et al.*, 1987a; Larrea *et al.*, 1990; Van Baelen *et al.*, 1992). Adanya mutasi titik dapat menyebabkan modifikasi atau substitusi asam amino tunggal dalam SHBG manusia. Modifikasi atau substitusi asam amino tunggal dalam SHBG manusia dapat berpengaruh pada aktivitas ikatan terhadap steroid.

## BAB IV.

### PENGUKURAN TESTOSTERON DAN SHBG

#### 1. Pengukuran testotestosterone total

*Coat-A-count total testosterone* (DPC<sup>b</sup>, 1999) merupakan *radioimmunoassay* fase padat. Antibodi khusus-testosterone total (*total testosterone-specific antibody*) diimmobilisasi pada dinding tabung polipropilen. Testosterone total yang dilabel <sup>125</sup>I (<sup>125</sup>I — *total testosterone*) berkompetisi dengan testosterone total dalam serum sampel terhadap antibodi khusus-testosterone total. Setelah tabung didekantasi maka berakhirilah fase terjadinya ikatan antara antibodi dengan testosterone total. Pengukuran konsentrasi testosterone total dengan *gamma counter*. Kadar testosterone total serum sampel ditentukan dengan kurva kalibrasi.

#### 2. Pengukuran kadar testosterone bebas

*Coat-A-count free testosterone* (DPC<sup>c</sup>, 1999) merupakan *radioimmunoassay* fase padat. Antibodi khusus-testosterone bebas (*free testosterone-specific antibody*) diimmobilisasi pada dinding tabung polipropilen. Testosterone bebas yang dilabel <sup>125</sup>I (<sup>125</sup>I- *free testosterone*) berkompetisi dengan testosterone bebas dalam serum sampel terhadap antibodi khusus-testosterone bebas. Setelah tabung didekantasi maka berakhirilah fase terjadinya ikatan antara antibodi dengan testosterone bebas. Pengukuran konsentrasi testosterone bebas dengan *gamma counter*. Kadar testosterone bebas serum sampel ditentukan dengan kurva kalibrasi.

#### 3. Pengukuran kadar *sex hormone binding globulin*

*IRMA-Count SHBG* (DPC<sup>a</sup>, 1999) merupakan pengukuran secara imunologis menggunakan zat radioaktif (*immunoradiometric assay*). Cara pengukuran ini berdasar pada dinding tabung yang dilapisi ligan dan penggunaan antibodi monoklonal. Antibodi monoklonal tersebut mempunyai spesifisitas terhadap SHBG, ada yang dilabel <sup>125</sup>I dan yang lain dilabel ligan. SHBG dalam serum sampel diikat oleh antibodi monoklonal yang dilabel ligan sesuai dengan reaksi kinetik fase cair. Kompleks tersebut kemudian berikatan dengan ligan pada dinding tabung melalui perantara anti-ligan (*anti-ligand bridge method*) yang berikatan dengan ligan baik dipermukaan tabung maupun pada antibodi yang telah berikatan dengan SHBG.

Kemudian ditambahkan antibodi monoklonal terhadap SHBG yang dilabel  $^{125}\text{I}$ . Antibodi tersebut akan terikat pada SHBG yang telah membentuk kompleks di permukaan dinding tabung. Pencucian tabung dilakukan untuk menghilangkan kelebihan penanda radioaktif. Radioaktivitas dalam tabung dibaca dengan *gamma counter* dan hasilnya sebanding dengan kadar SHBG dalam serum sampel.

## **BAB V.**

### **PENENTUAN FENOTIP SHBG**

SHBG serum sampel memiliki berat molekul sekitar 100 kDa. Sebelum elektroforesis, albumin serum dihilangkan dengan *blu sepharose*. SHBG serum sampel saat dilakukan elektroforesis gel poliakrilamid sodium dodesil sulfat (*sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis* = SDS-PAGE) mengalami separasi berdasar berat molekulnya.

Sodium dodesil sulfat mengikat sepanjang rantai polipeptida dan kompleks protein-sodium dodesil sulfat sebanding dengan berat molekulnya. Pita SHBG hasil separasi pada gel kemudian ditransfer pada membran nitroselulosa (imobilon). Pita SHBG pada imobilon direaksikan dengan antibodi poliklonal kelinci anti-SHBG manusia (*polyclonal rabbit anti-human SHBG immunoglobulin*). Setelah itu direaksikan dengan antibodi poliklonal kambing anti-kelinci anti-SHBG manusia (*polyclonal goat anti-rabbit anti-human SHBG immunoglobulin*) yang dikonyugasikan dengan fosfatase alkali (*alkaline phosphatase*).

Setelah membran dicuci dengan nonidet P-40 dalam *tris buffer saline* (TBS) kemudian warnai dengan 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphatase (BCIP) dan nitroblue tetrazolium (NBT) untuk melihat pita SHBG. Pita SHBG serum sampel dibandingkan dengan pita SHBG standar (kontrol). Jumlah pita SHBG serum sampel digunakan untuk menentukan 2 macam fenotip SHBG, yaitu fenotip SHBG normal (2 pita SHBG = SHBG *double banded*) dan fenotip SHBG varian (3 pita SHBG = SHBG *triple banded*).

## Daftar Pustaka

Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K. and Watson J. D. (1994) *Molecular Biology of the cell*. Third ed. hal. 729 – 730. Garland Publishing, Inc. New York & London.

Anderson, D. C. (1974) .Sex hormone binding globulin (Review article). *Clinical Endocrinology*. 3, 69 – 96.

Anderson K. E., Rosner W., Khan M. S., New M. I., Pang S., Wissel P. S. and Kappas A. (1987) Diet-hormone interactions: Protein/carbohydrate ratio alters reciprocally the plasma levels of testosterone and cortisol and their respective binding globulins in man. *Life Science*. 40, 1761 – 1768.

Anderson, R. A. and Baird D. T. (2002) Male contraception. *Endocrine Reviews*. 23, 735 – 762.

Anderson, R. A., Wallace, A. M., and Wu, F. C. (1996) Comparisson between tetosterone enanthate induced azoospermia and oligozoospermia in male contraceptive study. III. Higher 5-alpha reductase activity in oligozoospermic men administered supraphisyological dose of testosterone. *J. Clin. Endocrinol. Metab. Mar.* 81, 902 - 908.

Avvakumov G. V., Grishkovskaya I., Muller Y. A. and Hammond G. L. (2001) Resolution of the human sex hormone binding globulin dimmer interface and evidence for two steroid-binding sites per homodimer. *J. Biol. Chem.* 276, 34453 – 34457.

Avvakumov G. V., Muller Y. A. and Hammond G. L. (2000) Steroid binding specificity of human sex hormone-binding globulin is influenced by occupancy of a zinc-binding site. *J. Biol. Chem.* 275, 25920 - 25925.

Bagatell, C. J., Matsumoto, A.M., Christensen, R. B., Revier, J. E., and Bremner, W. J. (1993) Comparison of gonadotrophin releasing hormone antagonist plus testosterone (T) versus T alone as potential male contraceptive regimens. *J. Clin. Endocrinol. Metab. August.* 77, 427 - 432.

Bagatell C. J., Heiman J. R., Matsumoto A. M., Rivier J. E. and Bremner W. J. (1994) Metabolic and behavioral effects of high-dose exogenous testosterone in healthy men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 79, 561 - 567.

Bain J. (1986) Androgen progestin combination: Clinical trial, dalam *Regulation of male fertility* (Cunningham G. R., Schill W. B. & Hafez E. S. E., ed), hal. 85 - 92. Martinus Nijhoff Publisher, London.

Beck K., Gruber T., Ridgeway C. C., Hughes W., Sui L. M. and Petra P. H. (1997) Secondary structure and shape of plasma sex steroid-binding protein. Comparison with domain G of laminin results in structural model of plasma sex steroid-binding protein. *Eur. J. Biochem.* 247, 339 – 347.

Belanger A., Locong A., Noel C., Cusan L., Dupont A., Prerost J., Caron S. and Sevigny J. (1989) Influence of diet on plasma steroid and sex plasma binding globulin levels in adult men. *J. Steroid Biochem.* 32, 829 - 833.

Berdanier C. D. (2000) Nutrient-gene interactions. *Nutrition Science.* 35, 8 – 17.

Berube D., Seralini G. E., Gagne R and Hammond G. L. (1990) Localization of the human sex hormone binding globulin gene (SHBG) to the short arm of chromosome 17 (17p12 – p 13). *Cytogenet. Cell Genet.* 54, 65 – 67.

Bocchinfuso W. P., Ma K. L., Lee W. M., Warmels-Rodenheiser S. and Hammond G. L. (1992) Selective removal of glycosylation sites from sex hormone-binding globulin by site-directed mutagenesis. *Endocrinology.* 1, 2331 – 2336.

Bond A. and Davis C. (1987) Sex hormone binding globulin in clinical perspective. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 66, 255 - 262.

Bremner W. J. and De Krestser D. M. (1976) The prospects for new, reversible male contraceptives. *New. Eng. J. Med.* 11, 1111 - 1117.



Brooks D. E. (1981) Metabolic activity in the epididymis and its regulation by androgen. *Physiol. Rev.* 61, 515 - 555.

Chiron Diagnostics<sup>a</sup> (1999) *Albumin reagent*. Chiron Diagnostics GmbH, Siemensstrasse 3, D-35463 Fernwald, Germany.

Chiron Diagnostics<sup>b</sup> (1999) *Glucose HK reagent*. Chiron Diagnostics GmbH, Siemensstrasse 3, D-35463 Fernwald, Germany.

Chiron Diagnostics<sup>c</sup> (1999) *Triglyceride GPO*. Chiron Diagnostics GmbH, Siemensstrasse 3, D-35463 Fernwald, Germany.

Cornelisse M. M., Bennett P. E., Christiansen M., Blaakaer J., Gluud C., Andersen J. R., Homann C. and Garred P. (1994) Sex hormone binding globulin phenotype: their detection and distribution in healthy adults and in different clinical conditions. *Clinica Chimica Acta.* 225, 115 – 121.

Cousin, P., Dechaud, H., Grenot, C., Lejeune, H., and Pugeat, M. (1998) Human variant sex hormone-binding globulin (SHBG) with an additional carbohydrate chain has a reduced clearance rate in rabbit. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83, 235 - 240.

Cunningham SK, Loughlin T, Culliton M. et al. The relationship between sex steroids and sex-hormone-binding globulin in plasma in physiological and pathological conditions. *Ann. Clin. Biochem.* 1985, 22, 489 – 497.

Cunningham SK, Loughlin T, Culliton M, et al. Plasma sex hormone-binding globulin and androgen levels in the management of hirsute patients. *Acta. Endocrinol.* 1983, 104, 365 – 371.

Cunningham S. K., Loughlin T., Culliton M. and McKenna T. J. (1985) The relationship between sex steroids and sex-hormone-binding globulin in plasma in physiological and pathological conditions. *Ann. Clin. Biochem.* 22, 489 – 497.

Damassa D. A., Gagin G. A. and Gustafson A. W. (1996) Purification and characterization of the sex hormone binding-globulin in serum from Djungarian hamsters. *Comparative Biochemistry and Physiology [B]*. 113, 593 – 599.

DPC<sup>a</sup> (1999) *IRMA-Count SHBG*. Diagnostic Products Corporation 5700 West 96<sup>th</sup> Street, Los Angeles, CA 90045 – 5597, United States.

DPC<sup>b</sup> (1999) *Cout-A-count total testosterone*. Diagnostic Products Corporation 5700 West 96<sup>th</sup> Street, Los Angeles, CA 90045 – 5597, United States.

DPC<sup>c</sup> (1999) *Cout-A-count free testosterone*. Diagnostic Products Corporation 5700 West 96<sup>th</sup> Street, Los Angeles, CA 90045 – 5597, United States.

DPC<sup>d</sup> (1999) *Cout-A-count insulin*. Diagnostic Products Corporation 5700 West 96<sup>th</sup> Street, Los Angeles, CA 90045 – 5597, United States.

Dunn J. F., Nisula B. C. and Rodbard D. (1981) 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.* 53, 58 – 68.

Edy Parwanto. Pengaruh asupan lipid-protein dan polimorfisme sex hormone binding globulin (SHBG) terhadap kadar shbg pada pria indonesia dan kaukasia. Disertasi, FK UI. 2004.

Franchimont P., Chari S. and Demoulin A. (1975) Hypothalamus - pituitary - testis interaction. *J. Reprod. Fert.* 44, 335 - 350.

Fortunati N., Fissore F., Fazzari A., Berta L., Giudici M. and Frairia R. (1992) The membrane receptor for sex steroid binding protein is not ubiquitous. *J. Endocrinol. Invest.* 15, 617 – 620.

Garza and Flores J. (1994) Pharmacokinetics of once-a month injectable contraceptives. *Contraception.* 4, 347 - 359.

Gates J. R., Parpia B., Campbell T. C. and Junshi C. (1996) Association of dietary factors and selected plasma variables with SHBG in rural Chinese women. *Am. J. Clin. Nutr.* 63, 22 - 31.

Gershagen S., Fernlund P. and Lundwall A. (1987a) A cDNA coding for sex steroid binding globulin. Homology to vitamin K-dependent protein S. *FEBS Lett.*; 220, 129 – 135.

Gershagen S., Henningsson K. and Ferlund P. (1987b) Subunits of human sex hormone-binding globulin. Inter-individual variation in size. *J. Biol. Chem.* 262, 8430 – 8437.

Gershagen S., Lundwall A. and Fernlund P. (1989) Characterization of the human sex hormone binding globulin (SHBG) gene and demonstration of two transcripts in both liver and testis. *Nucl. Acid Res.* 17, 9245 – 9528.

Gibson R. S. (1990) Assesment of body fat, dalam *Nutritional Assesment a laboratory manual*, hal. 101, Oxford University Press.

Gralla J. D. (1990) Promoter recognition and mRNA initiation by Escherichia coli E $\sigma$ 70. *Methods Enzymol.* 185, 37 – 54.

Granner D. K. (1997) Hormon pancreas & traktus gastrointestinal, dalam *Biokimia Harper (Harper's Biochemistry)* (Murray R. K., Granner D. K., Mayes P. A. and Rodwell V. W., ed., alih bahasa Hartono A.). Penerbit Buku Kedokteran EGC Jakarta, edisi ke 24, hal. 598 – 616.

Grenot C., Montard A., Blachere T., Rolland de Ravel M., Mappus E. and Cuilleron C. Y. (1992) Characterization of Met-139 as the photolabeled amino acid residue in the steroid binding site of sex hormone binding globulin using  $\Delta$ 6 derivatives of either testosterone or estradiol as unsubstituted photoaffinity labeling reagents. *Biochemistry.* 31, 7609 – 7621.

Gunsalus G. L., Carreau S., Vogel D. L., Musto N. A. and Bardin C. W. (1984) *Use of androgen-binding protein to monitor development of the seminiferous epithelium. In "Sex differentiation: Basic and clinical aspects"*. M. Serio, ed. Raven Press, New York. 53 – 64.

Gui-yuan Z. (1990) Contraceptive efficacy of testosterone induced azoospermia in normal men. *The Lancet*. 336, 955 - 999.

Haffner S. M., Laakso M., Miettinen H., Mykkanen L., Karhapaa P. and Rainwater D. L. (1996) Low levels of sex hormone-binding globulin and testosterone are associated with smaller, denser low density lipoprotein in normoglycemic men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81, 3697 – 3701.

Hamalainen E., Adlercreutz H., Ehnholm C. and Puska P. (1986) Relationships of serum lipoproteins and apoproteins to sex hormones and to the binding capacity of sex hormone binding globulin in healthy Finnish men. *Metabolism*. 35, 535 – 541.

Hammond G. L. and Bocchinfuso W. P. (1995) Sex hormone-binding protein: steroid-binding and dimerization domains. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 53, 543 – 552.

Hammond G. L., Underhill D. A., Smith C. L., Goping I. S., Harley M. J., Musto N. A., Cheng C. J. and Bardin C. J. (1987) The cDNA-deduced primary structure of human sex hormone-binding globulin and location of its steroid-binding domain. *FEBS Lett.* 215, 100 – 104.

Hammond G. L., Underhill D. A., Rykse H. M. and Smith C. L. (1989) The human sex hormone-binding globulin gene contains exons for androgen-binding protein and two other testicular messenger RNAs. *Mol. Endocrinol.* 3, 1869 – 1876.

Handelsman. D.J., Farley, T. M., Peregoudov, A., and Waites, G.M. (1995) Factors in nonuniform induction of azoospermia by testosterone enanthate in normal men. World Health Organization (WHO) Task Force on methods for the regulation of male Fertility. *Fertil. Steril.* 63, 125 - 133.

Hansson V. (1972) Further characterization of the 5 $\alpha$ -dihydrotestosterone binding protein in the epididymal cytosol fraction. In vitro studies. *Steroids*. 20, 575 – 596.

He B., Kempainen J. A., Voegel J. J., Gronemeyer H., Wilson E. M. (1999) Activation function 2 in the human androgen receptor ligand binding domain mediates interdomain communication with the NH<sub>2</sub>-terminal domain. *J. Biol. Chem.* 274, 37219 – 37225.

Heinlein C. A. and Chang C. (2002) The roles of androgen receptors and androgen-binding proteins in nongenomic androgen actions. *Mol. Endocrinol.* 16, 2181 – 2187.

Hill P., Wynder E. L., Garbaczewski L. and Walker A. R. P. (1982) Effects of diet on plasma and urinary hormones in south African black men with prostatic cancer. *Cancer Res.* 42, 3864 - 3869.

Hogeveen K. N., Talikka M. and Hammond G. L. (2001) Human sex hormone-binding globulin promoter activity is influenced by a (TAAAA)<sub>n</sub> repeat element within an *mAlu* sequence. *J. Biol. Chem.* 276, 36383 – 36390.

Hogeveen K. N., Cousin P., Pugeat M., Dewaily D., Soudan B. and Hammond G. L. (2002) Human sex hormone-binding globulin variants associated with hyperandrogenism and ovarian dysfunction. *J. Clin. Invest.* 109, 973 – 981.

Hryb D. J., Khan M. S., Romas N. A. and Rosner W., (1990) The control of the interaction of sex hormone-binding globulin with its receptor by steroid hormones. *J. Biol. Chem.* 265, 6048 – 6054.

Hryb D. J., Nakhla A. M., Khan M. S., St. George J., Levy N. C., Romas N. A. and Rosner W. (2002) Sex hormone-binding globulin in the human prostate is locally synthesized and may act as an autocrine/paracrine effector. *J. Biol. Chem.* 277, 26618 – 26622.

Hsu A. F. and Troen P. (1978) An androgen binding protein in the testicular cytosol of human testis. *J. Clin. Invest.* 61, 1611 – 1619.

Johnson P. F., Sterneck E. and Williams S. C. (1993) Activation domains of transcriptional regulatory proteins. *J. Nutr. Biochem.* 4, 386 – 398.

Joseph D. R., Hall S. H. and French F. S. (1987) Rat androgen binding protein. Evidence for identical subunits and amino acid sequence homology with human sex hormone-binding globulin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 84, 339 – 343.

Joseph D. R., Lawrence W. and Danzo B. J. (1992) The role of asparagines-linked oligosaccharides in the subunit structure, steroid binding and secretion of androgen-binding protein. *Mol. Endocrinol.* 6, 1127 – 1134.

Joseph D. R. and Lawrence W. (1993) Mutagenesis of essential functional residues of rat androgen-binding protein/sex hormone-binding globulin. *Mol. Endocrinol.* 7, 488 – 496.

Joseph D.R. (1994) Structure, function and regulation of androgen binding protein/sex hormone binding globulin (SHBG). *Vitamin and Hormones.* 49, 197 - 204.

Junqueira L. C., Carneiro J. and Long J. A. (1986) The male reproductive system, dalam *Basic histology, 6<sup>th</sup> ed. hal.* 468 – 484. Appleton-Century-Crofts, USA.

Kamischke A., Venherm S., Ploger D., von Eckerstein S. and Nieschlag E. (2000) Controlled clinical trial for male contraception with injectable testosterone undecanoate alone or with oral levogestrel or injectable norethisterone enanthate (*abstract*). *Hum. Reprod.* 15, 81.

Kahn S. M., Hryb D. J., Nakhla A. M., Romas N. A. and Rosner W. (2002) Beyond carrier proteins: Sex hormone-binding globulin is synthesized in target cells. *Journal of Endocrinology.* 175, 113 – 120.

Kaunitz A. M. (1994) Long-acting injectable contraception with depot medroxyprogesterone acetate. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 170, 1543 – 1549.

Kerppola T. K. and Kane C. M. (1991) RNA polymerase: regulation of transcript elongation and termination. *FASEB J.* 5, 2833 – 2842.

Kierszenbaum A. L., Feldman M., Lea O. A., Spruill W. A., Tres I. L., Petrusz P. and French F. S. (1980) Localization of androgen-binding protein in proliferating Sertoli cells in culture. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 77, 5322 – 5326.

Kottler M. L., Counis R. and Degrelle H. (1989) Sex steroid-binding protein: identification and comparison of the primary product following cell-free translation of human and monkey (*Macaca fascicularis*) liver RNA. *J. Steroid Biochem.* 33, 201 – 207.

Krupenko S. A., Krupenko N. I. and Danzo B. J. (1994) Interaction of sex hormone-binding globulin with plasma membranes from the rat epididymis and other tissues. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 51, 115 –124.

Lapidus L., Lindstedt G., Lundberg P., Bengtsson C and Gredmark T. (1986) Concentrations of sex-hormone binding globulin and corticosteroid binding globulin in serum in relation to cardiovascular risk factors and to 12-year incidence of cardiovascular disease and overall mortality in postmenopausal women. *Clin. Chem.* 32, 146 – 152.

Larera F., Oliari R. M., Granados J., Mutchinick O., Diaz-Sanchez V. and Musto N. A. (1990) Genetic polymorphism of the human sex hormone-binding globulin: evidence of an isoelectric focusing variant with normal androgen-binding affinities. *J. Steroid Biochem.* 36, 541 – 548.

Lermite V. and Terqui M. (1991) Plasma sex steroid binding protein in mature heifers: Effect of the reproductive status, nutritional levels and porcine growth hormone and estradiol treatment. *Biol. Reprod.* 44, 894 - 900.

Lindstedt G., Lundberg PA., Hammond G. L. and Vihko R. (1985) Sex hormone-binding globulin – still many questions (editorial review). *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 45, 1 – 6.

Llopis M. A., Granada M. L., Cuatrecasas G., Formiguera X., Sanchez-Planell L., Sanmarti A., Alastrue A., Rull M., Corominas A. and Foz M. (1998) Growth hormone-

binding protein directly depends on serum leptin levels in adults with different nutritional status. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83, 2006 – 2010.

Marthur R. S., Moody L. O., Landgrebbe S. and Williamson H. O. (1981) Plasma androgens and sex hormone-binding globulin in the evaluation of hirsute patients. *Fertil. Steril.* 35, 29 – 35.

Matsumoto A. M. (1990) Effects of chronic testosterone administration in normal men: safety and efficacy of high dosage of testosterone and parallel dose-dependent suppressing of hormone luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and sperm production. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1, 282 - 287.

Mayes P. A. (1997a) Nutrisi, dalam *Biokimia Harper (Harper's Biochemistry)* (Murray R. K., Granner D. K., Mayes P. A. and Rodwell V. W., ed., alih bahasa Hartono A.). Penerbit Buku Kedokteran EGC Jakarta, edisi ke 24, hal. 645 – 654.

Mayes P. A. (1997b) Ikhtisar Metabolisme Antara, dalam *Biokimia Harper (Harper's Biochemistry)* (Murray R. K., Granner D. K., Mayes P. A. and Rodwell V. W., ed., alih bahasa Hartono A.) Penerbit Buku Kedokteran EGC Jakarta, edisi ke 24, hal. 163 – 172.

Mendel C. M. (1989) The free hormone hypothesis: A physiologically based mathematical model. *Endocrinol Rev.* 10, 232 - 274.

Means A. R., Dedman J. R., Tash J. S., Tindall D. J. and Welsh M. J. (1980) Regulation of the testis Sertoli cell by follicle stimulating hormone. *Annu. Rev. Physiol.* 42, 59 - 70.

Merchantaler I., Francisco J. L. and Andres N. V. (1993) The synthesis of galanin in LHRH neurons is sex steroid dependent; the role of galanin in the regulation of LH secretion, dalam *Current topics in Andrology*. (Oshima H. and Burger H. G., ed), 13 Japan Society of Andrology, Japan.

Mishell D. R., Jr. (1996) Pharmacokinetics of depot medroxyprogesterone acetate contraception. *J. Reprod. Med.* 41, 381 - 390.



Moeloek N. (1993) Comparison of two androgens plus depot-medroxyprogesterone acetate for suppression to azoospermia in Indonesian men. *Fertil. Steril.* 60: 1062 - 1068.

Moeloek N., Pujianto D. A., Agustin R., Arsyad K. M., Waluyo P., Prihyugiarto Y., and Mbizvo M. T. (2001) Achieving azoospermia by injections of testosterone undecanoate alone or combined with depot medroxyprogesterone acetate in Indonesian men (Jakarta Center Study). *VII International Congress of Andrology, Montreal, Canada. Jun. 15 – 19, 545 – 550.*

Muhilal (1995) Transitions in diet and health: implications of modern lifestyles in Indonesia. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.* 94, 132 – 134.

Murray R. K. (1997) Glikoprotein, dalam *Biokimia Harper (Harper's Biochemistry)* (Murray R. K., Granner D. K., Mayes P. A. and Rodwell V. W., ed., alih bahasa Hartono A.) Penerbit Buku Kedokteran EGC Jakarta, edisi ke 24, hal. 163 – 172.

Nakhla A. M., Khan M. S. and Rosner W. (1990) Biologically active steroids activate receptor-bound human sex hormone-binding globulin to cause LNCaP cells to accumulate adenosine 3', 5'-monophosphate. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 71, 398 – 404.

Nakhla A. M., Leonrad J., Hryb D. J. and Rosner W. (1999) Sex hormone-binding globulin receptor signal transduction proceeds via a G protein. *Steroid.* 4, 213 – 216.

Namkung P. C., Stanczyk. F. Z., Cook M. J., Novy M. J. and Petra P. H. (1989) Half life of plasma sex steroid-binding protein (SBP) in the primate. *J. Steroid Biochem.* 32, 675 – 680.

Namkung P. C., Kumar S., Walsh K. A. and Petra P. H. (1990) Identification of lysine-134 in the steroid binding site of the sex steroid binding protein of human plasma. *J. Biol. Chem.* 265, 18345 – 18350.

Nishimura H, L'Hernault SW. Spermatogenesis. *Current Biology* 27, R979–R1001.  
<http://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0960-9822%2817%2930971-5>

Pangkahila W. (1991) Reversible azoospermia induced by an androgen-progestin combination regimen in Indonesian men. *Int. J. Adrol.* 14, 248 - 256.

Pascal N., Amouzou E. K., Sanni A., Namour F., Abdelmoutaleb I., Vidailhet M. and Gueant J. L. (2002) Serum concentrations of sex hormone binding globulin are elevated in kwashiorkor and anorexia nervosa but not in marasmus. *Am. J. Clin. Nutr.* 76, 239 – 244.

Pasquali R., Casimiri F., Deiasio R., Mesini P., Boschi S., Chierici R., Flamia R., Biscotti M. and Vicennati V. (1995) Insulin regulates testosterone and sex hormone-binding globulin concentrations in adult normal weight and obese men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 71, 398 – 404.

Petra P. H., Stanczyk F. Z., Namkung P. C., Fritz M. A. and Novy M. J. (1985) Direct effect of steroid-binding protein (SBP) of plasma on the metabolic clearance rate of testosterone in the *Rhesus macaque*. *J. Steroid Biochem.* 22, 739 – 746.

Petra P. H., Namkung P. C., Seneor D. F., David A., McCrae., Rousslang K. W., Teller D. C. and Ross J. B. A. (1986) Molecular characterization of the sex steroid binding protein (SBP) of plasma. Re-examination of rabbit SBP and comparison with the human, macaque and baboon proteins. *Journal Biochemistry.* 2, 191 – 200.

Petra P. H. (1991) The plasma sex steroid binding protein (SBP or SHBG). A critical review of recent developments on the structure, molecular biology, and function. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 40, 735 – 753.

Petra P. H., Griffin P. R., Yates III J. R., Moore K and Zhang W. (1992) The complete deglycosylation of native sex steroid-binding protein of human and rabbit plasma (SBP or SHBG). Effects on the steroid-binding activity. *Protein Sci.* 1, 902 – 909.

Porto C. S., Lazari M. F., Abreu L. C., Bardin C. W. and Gunsalus G. L. (1995) Receptors for androgen-binding proteins: Internalization and intracellular signaling. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 53, 561 – 565.

Power S. G., Bocchinfuso W. P., Pallesen M., Warmeis-Rodenhiser S., Van Baelen H. and Hammond G. L. (1992) Molecular analysis of human sex hormone-binding globulin variant: evidence for an additional carbohydrate chain. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 75, 1066 - 1070.

Primiero F. M. and Benagiano G (1994) Long-acting contraceptives, dalam *Pharmacology of the contraceptive steroids* (Goldzieher J. W. and Fortherby K. ed), hal. 27 - 40. Raven Press, Ltd. New York.

PubChem. Testosterone. 2024. <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/testosterone>

Pugeat M., Rocle B., Chrousos G. P., Dunn J. F., Lipsett M. B. and Nisula B. C. (1984) Plasma testosterone transport in primates. *J. Ster. Biochem.* 20, 473 - 478.

Reed M. J., Cheng R. W., Simmonds M., Richmond W. and James V. H. T. (1987) Dietary lipid: an additional regulator of plasma levels of SHBG. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 64, 1083 - 1085.

Rommerts F. F. G. (1990) Testosterone: An overview of biosynthesis, transport, metabolism and actions, dalam *Testosterone Action Deficiency Substitution* (Nieschlag E. and Behre H. M., ed), hal. 1 - 22. Springer-Verlag, Berlin.

Rosner W (1990) The functions of corticosteroid binding globulin (CBG) an sex hormone binding globulin (SHBG). *Recent advances. Endocrinol Rev.* 11, 80 - 91.

Rosner W., Hryb D. J., Khan M. S., Nahkla A. M. and Romas., N. A. (1998) Androgen, estrogen, and second messengers. *Steroids.* 63, 278 – 281.

Rosner W., Hryb D. J., Khan M. S., Nahkla A. M. and Romas., N. A. (1999) Sex hormone-binding globulin mediates steroid hormone signal transduction at the plasma membrane. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 69, 481 – 485.

Rowena P. (1996) *World Food 2 Program*. University of California, USA.

Roy A. K., Lavrovsky Y., Song C. S., Chen S., Jung M. H., Velu N. K. Bi B. Y., Chatterjee B. (1999) Regulation of androgen action. *Vitam. Horm.* 55, 309 -352.

Scriver C. R. (1988) Nutrient-gene interactions: the gene is not the disease and vice versa. *Am. J. Clin. Nutrition.* 48, 1505 – 1509.

Semenza G. L. (1994) Transcriptional regulation of gene expression: Mechanisms and pathophysiology. *Human Mutation.* 3, 180 – 199.

Simopoulos A. P. (1999) Genetic variation and nutrition. *Nutrition Review.* 7, S10 – S19.

Steinberger E. (1971) Hormonal control of mammalian spermatogenesis. *Physiol. Rev.* 51, 1 - 22.

Street C., Herry R. J. S., Al-Othman S. and Chard T. (1989) Inhibition of binding of gonadal steroid to serum binding protein by non-esterified fatty acids: The influence of chain length and degree of unsaturation. *Acta Endocrinol.* 120, 175 - 179.

Sucharoen N., Aribarg A., Kriangsinyos R., Chanprasit J. and Ngeamvijayat J. (1996) Contraceptive efficacy and adverse effect of testosterone enanthate in Thai men. *J. Med. Assoc. Thai.* 79, 767 - 773.

Sui L. M., Cheung A. W. C., Namkung P. C. and Petra P. H. (1992) Localization of the steroid-binding site of the human sex steroid-binding protein of plasma (SBP or SHBG) by site-directed mutagenesis. *FEBS Lett.* 310, 115 – 118.

Sui L. M., Hughes W., Hoppe A. and Petra P. H. (1996) Direct evidence for the localization of the steroid-binding site of the plasma sex steroid-binding protein (SBP or SHBG) at the interface between the subunits. *Protein Sci.* 5, 2514 – 2522.

Sui L. M., Lennon J., Ma C., McCann I., Woo I. and Petra P. H. (1999) Heterologous expression of wild type and deglycosylated human sex steroid-binding protein (SBP or SHBG) in the yeast, *Pichia pastoris*. Characterization of the recombinant proteins. *J. of Ster. Biochem. and Mol. Biol.* 68, 119 – 127.

Suhana N., Sutyarso, Moeloek N., Soeradi O., Sukmaniah S. S. and Supriatna J. (1999) The effects of feeding an Asian or western diet on sperm numbers, sperm quality and serum hormone levels in cynomolgus monkey (*M. fascicularis*) injected with testosterone enanthate (TE) plus depot medroxy progesterone acetate (DMPA). *Int. J. of Andrology.* 22, 102 - 112.

Toscano V., Balducci R., Bianchi P., Guglielmi R., Mangiantini A. and Sciarra F. (1992) Steroidal and non-steroidal factors in plasma sex hormone binding globulin regulation. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* 43, 431 – 437.

Turner E. E., Ross J. B. A., Namkung P. C. and Petra P. H. (1984) Purification and characterization of the sex steroid binding protein from macaque serum. Comparison with the human protein. *Biochemistry.* 23, 492 – 497.

Van Baelen H., Convents R., Cailleau J. and Heyns W. (1992) Genetic variations of human sex hormone-binding globulin: evidence for worldwide bi-allelic gene. *J. Endocrinol. Metab.* 75, 135 - 139.

Volek J. S., Sharman M. J., Love D. M., Avery N. B., Gomez A. L., Scheett T. P. and Kraemer W. J. (2002) Body composition and hormonal responses to a carbohydrate-restricted diet. *Metabolism.* 57, 864 – 870.

Wallace E. M., Gow S. M. and Wu F. C. (1993) Comparison between testosterone enanthate induced azoospermia and oligozoospermia in male contraceptive study. I. Plasma luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, testosterone estradiol and inhibin concentrations. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 77, 290 - 293.

Walsh K. A., Titani K., Kumar S., Hayes R. and Petra P. H. (1986) Amino acid sequence of the sex steroid-binding protein (SBP) of human blood plasma. *Biochemistry*. 25, 7584 – 7590.

Westphal U. (1986a) Sex steroid-binding protein (SBP). *Monograph on Endocrinology*. 27, 198 – 275.

Westphal U. (1986b) Androgen-binding protein (ABP). *Monograph on Endocrinology*. 27, 276 - 301.

Wilke T. J. and Utley D. J. (1987) Total testosterone, free-androgen index, calculated free testosterone and free testosterone by analog RIA compared in hirsute women and in otherwise-normal women with altered binding of sex-hormone binding globulin. *Clinical Chemistry*. 33, 1372 – 1375.

World Health Organization (WHO) (1990). Task Force. Contraceptive efficacy of testosterone induced azoospermia in normal men. *Lancet*. 336, 955 - 959.

Wu F. C. W. (1988) Male contraception: current status and future prospects. *Clin. Endocrin*. 29, 443 – 465.

Yen S. S. C. (1993) Hypothalamus - hypofisis - gonad axis, dalam *Reproductive Endocrinology* (Yen S. S. C. and Jaffe R. B., ed), third edition. WB Saunders Co., Philadelphia.

Zhang G. Y., Gu Y. Q., Wang X. H., Cui Y. G. and Bremner W. J. (1999) A clinical trial of injectable testosterone undecanoate as a potential male contraceptive in normal Chinese men. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 84, 3642 – 3647.

Zirkin BR, Papadopoulos V. Leydig cells: formation, function, and regulation. *Biol Reproduction* 2018, 99(1): 101–111. doi:10.1093/biolre/iy059