

Laboratóriumi diagnosztikai lehetőségek a mellékvese betegségeiben

Dr. Patócs Attila PhD.

Egyetemi docens, laboratóriumvezető

Semmelweis Egyetem Laboratóriumi Medicina
Intézet Központi Izotóplaboratórium

Amiről szó lesz.....

- rövid áttekintés a különböző laboratórium módszerekről, ezek fejlődéséről
- hormonmérések:
 - immunometrikus módszerek: alapelve, hibaforrások,
 - endokrin rendszer szerveződése
- tengelyek menti szabályozás
- legfontosabb hormonok
- alap és dinamikus tesztek

Endokrin betegségek felismerése és gondozása

- **Gyakran jellegzetes anamnézis, tünetek, panaszok és külső jelek**
- **Gyakran tartós kezelés (gyógyulás után tartós megfigyelés) szükséges**
 - Hormonhiány rendszerint végleges –pl. Addison kór
 - Hormontúltermelés kiújulhat (Conn és Cushing szindróma, pheochromocytoma)
 - Több endokrin szervet érintő betegségek (MEN2, Carney komplex, VHL)
- **Krízis-állapotok alakulhatnak ki (Addison kór, hypertóniás krízis)**

Endokrin betegségek laboratóriumi diagnosztikája

Hormonmérések alapvető megfontolások: Miből? Mikor? Mennyit?

Vérből:

- alap helyzet (reggeli, éhgyomri)

DE

- stimuláció után is (dinamikus tesztek)

Vizeletből:

- általában gyűjtött (24 h)
- kortizol és katekolaminok és metabolitja

Nyálból:

- szabad hormonok (kortizol, 17OHP)

Mennyiség

- a lehető legkevesebbet, de a méréshez elegendőt (gyermekek, kissúlyú újszülöttek)

Hormonmérések technológiai háttere

Hormonok mérése **mikroanalitikai** módszerekkel történik (10^{-6} - 10^{-8} mol/L de pl. TSH 10^{-15})

Alapelvei:

1. *antitestkötésen alapuló immunanalitikai assay*
 - kompetitív
 - nem-kompetitív
2. *kromatográfiás (HPLC, GC) vizsgálatok*
3. *tömegspektrometria (MS)*

Antitestkötésen alapuló immunanalitikai assay

Leggyakoribb eljárások

Alapelv: antigén-antitest kötésen alapuló reakció

Radio-immunoassay (RIA)

Immunometrikus assay:

kompetitív assay: jelölt antigén+antitest, a koncentráció fordítottan arányos a detektált jellel

nem-kompetitív assay, „szendvics technika”: szilárd felülethez kötött specifikus antitest megköti a beteg mintájából származó hormont, majd kimosás és második jelölt antitest kötődik a már kialakult komplexhez. Alapfeltétel, hogy a vizsgálni kívánt hormonnak két antigén meghatározó doménje kell legyen.

Hormon laboratóriumi diagnosztikai módszerek, a kezdetektől napjainkig

<i>Vizsgálati módszer</i>	<i>Első megjelenés</i>
Radioimmunoassay	1956
Radioimmunometrikus assay	1967
Immunoradiometrikus szendvics módszer	1968
Kemilumineszcens assay	1971
Enzim kapcsolt immunosorbent assay	1971
Elektron spin rezonancia immunoassay	1975
Fluoreszcens polarizációs immunoassay	1979
Time resolved fluoroimmunoassay	1981
Tandem tömegspektrometria	1985
Elektrokemiluminenszcens assay	1991
Mikrochip kapilláris elektroforézis	1997
Microchannel array	2002

Szérum TSH vizsgálatok érzékenysége

Módszer	Érzékenység, SI egység
I. generációs immunoassay (IA)	0,6 - 1,2 mU/l
II. generációs IA	0,05 - 0,15 mU/l
III. generációs IA	0,005 - 0,015 mU/l
IV. generációs IA	< 0,005 mU/l

A kortizol vizsgálatok alsó mérési határa

Módszer	Alsó mérési határ Konvencionális (SI) mértékegység
Fluorometria	1-10 mg/dl (276-524 nmol/l)
Enzim immunoassay	1 mg/dl (27,6 nmol/l)
Fluoreszcens polarizációs folyadék kromatográfia	80-500 ng/dl (2,2-13,8 nmol/l)
Nagy nyomású folyadék kromatográfia (HPLC)	50-110 ng/dl (1,38-3 nmol/l)
Radioimmunoassay	3-200 ng/dl (0,08-5,52 nmol/l)
Enzimhez kapcsolt immunszorbens vizsgálat (ELISA)	1 ng/dl (27,6 pmol/l)
Izotóp-hígításos gáz kromatográfia - tömeg spektrometria	10-30 pg/dl (0,276-0,828 pmol/l)
Folyadék kromatográfia-tandem tömegspektrométer (LC-MS/MS)	15 pg/dl (0,414 pmol/l)

Immunanalitikai módszerek hibalehetőségei

1. *A vizsgálni kívánt hormonból* származó hibák:

- csak immunológiailag aktív molekulák vizsgálhatóak
- a vizsgált analit ellen endogén antitestek is képződhetnek pl.: autoantitestek (pajzsmirigy cc-ban a thyreoglobulin ellenes antitestek)
- antitestek: monoklonális (nagy specificitás, de a szenzitivitás gyengébb lehet), poliklonális (nagy szenzitivitás, csökkent specificitás)

2. *Mintagyűjtésből* származó hibák

3. *Módszerből* származó hibák

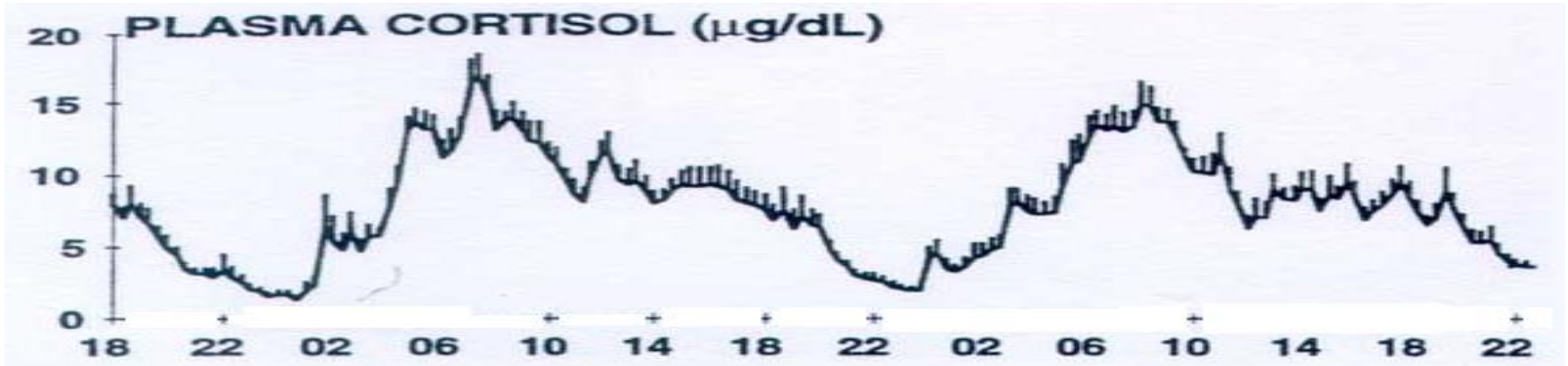
- jelölési hibák, a fluoreszcens v kemilumineszcens detektálást zavarhatják az endogén hormon szintek
- szabad hormon meghatározások esetén interakciók
- nagy teljesítményű automatizált mérésből adódó hibák: rövid inkubálási idő, extrakció hiánya, standardizálási hibák, normál értékek kérdése

Beteg, mint hibaforrás

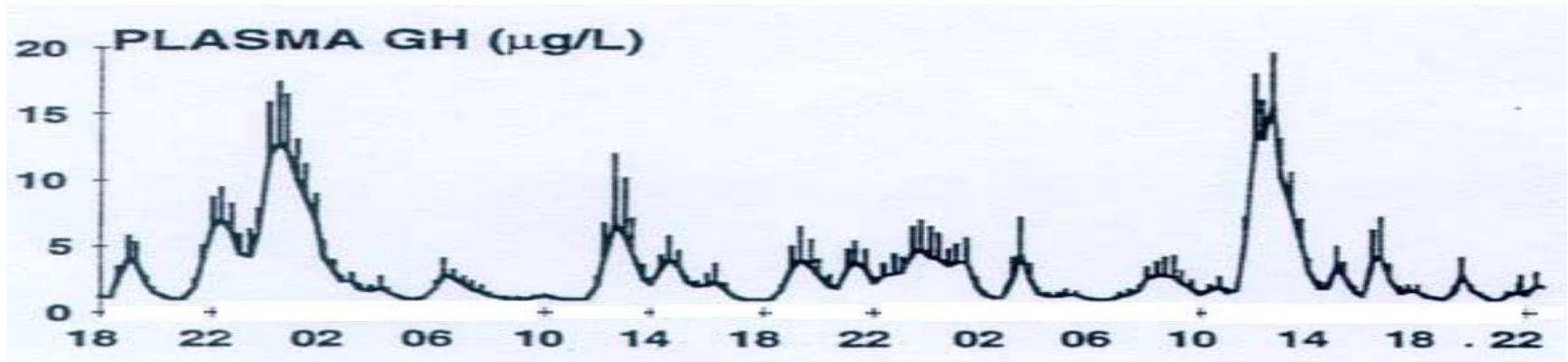
Fiziológiás állapotok, melyek befolyásolják a hormonvizsgálatokat:

- életkor
- terhesség
- menstruációs ciklus
- alimentáris állapot
- a vizsgált hormonok napszaki ritmusa
- stresszhatás (pl. renin aktivitás, catecholaminok)

Különböző hormonok szekréciójának napszaki ritmusa



Csúcs-értékek reggel 8 óra körül, minimum-értékek éjfélkor



A GH elválasztás éjjel, alvás alatt emelkedik, (a délutáni emelkedett értékek szintén alvás alatt mért hormonszintek). A GH elválasztás pulzatis jellege miatt a reggeli órákban egy alkalommal mért plasma GH szint diagnosztikus értéke kicsi.

Hormonlelet értékelése

- **Beteg**

 - neme

 - kora

 - menstruációs státusza/terhesség

- **Módszer**

 - módszertana

 - referencia tartománya*

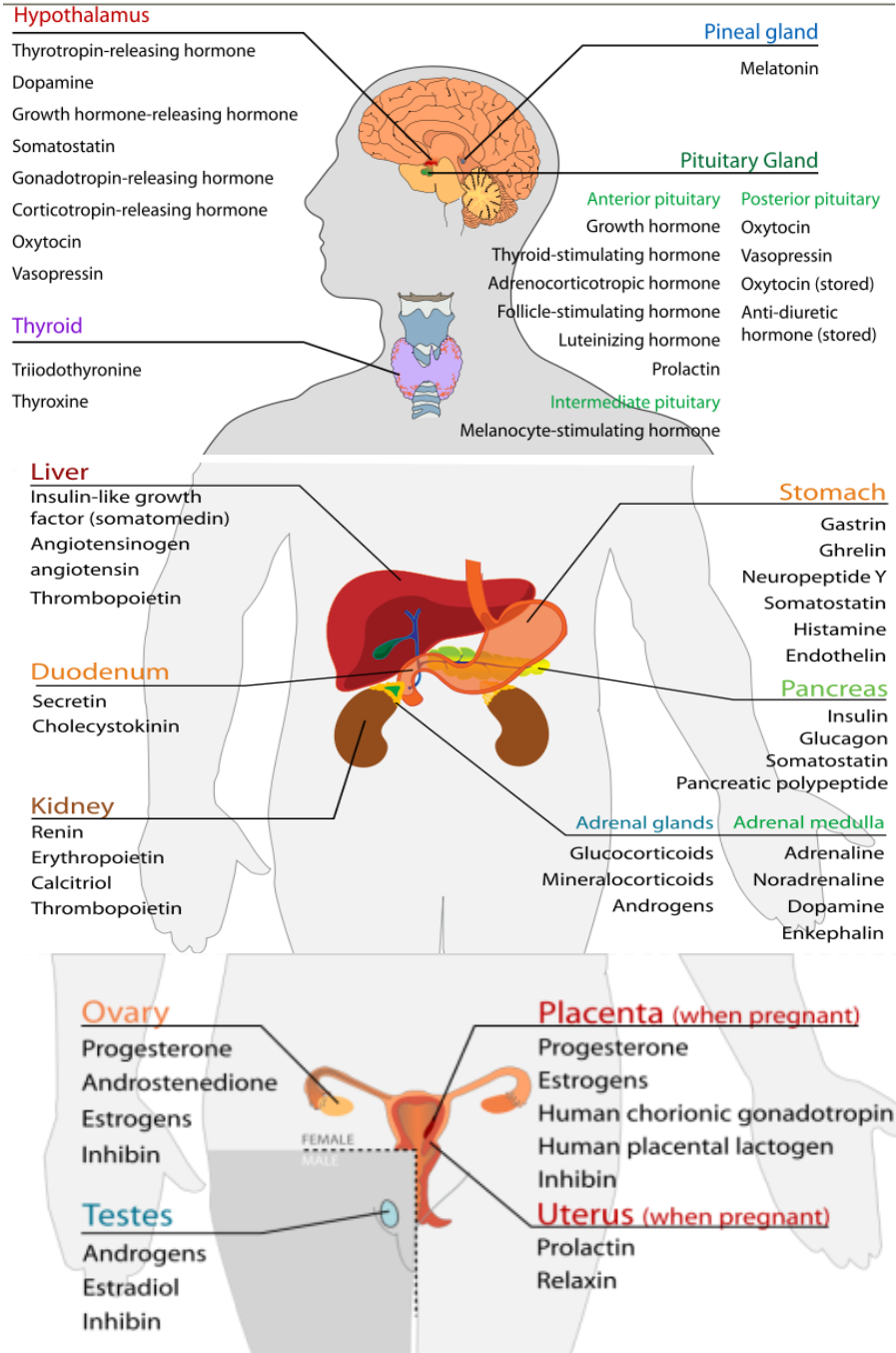
- **Összevetés a korábbi mérésekkel (delta-check)**

- **Összevetés egyéb hormonokkal, egyéb laboratóriumi paraméterekkel**
(pl. se. glükóz, se K, seNa, seCa)

- **Összevetés klinikai és más diagnosztikai eredményekkel**

Centralis, központi egységek

Periféria



Endokrin rendszer felépítése

Centralis,
központi
egységek

Hypothalamusz

Release-hormonok

Hypophysis

Hypophysis hormonok

Mellékvese

Pajzsmirigy

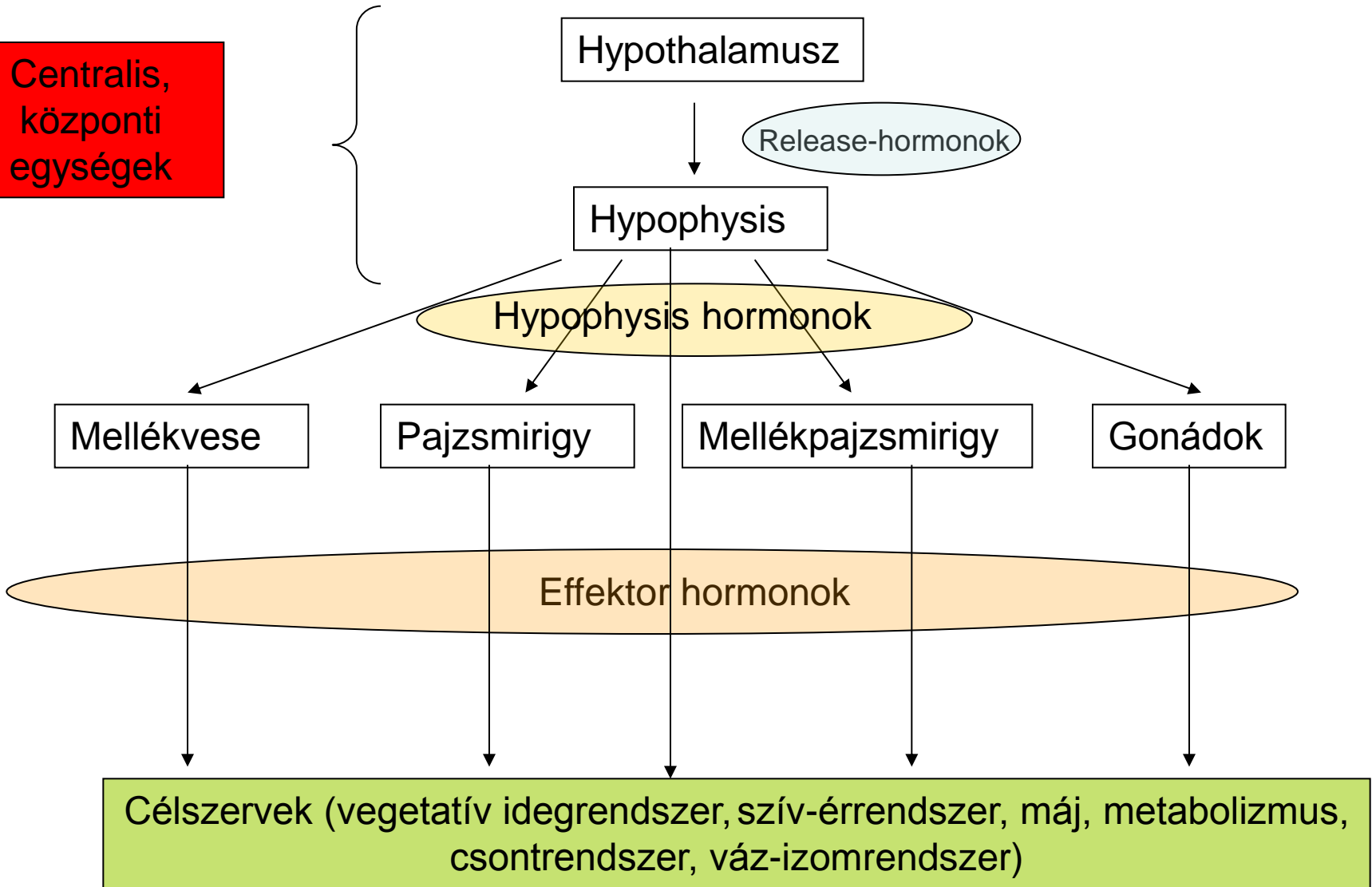
Mellékpajzsmirigy

Gonádok

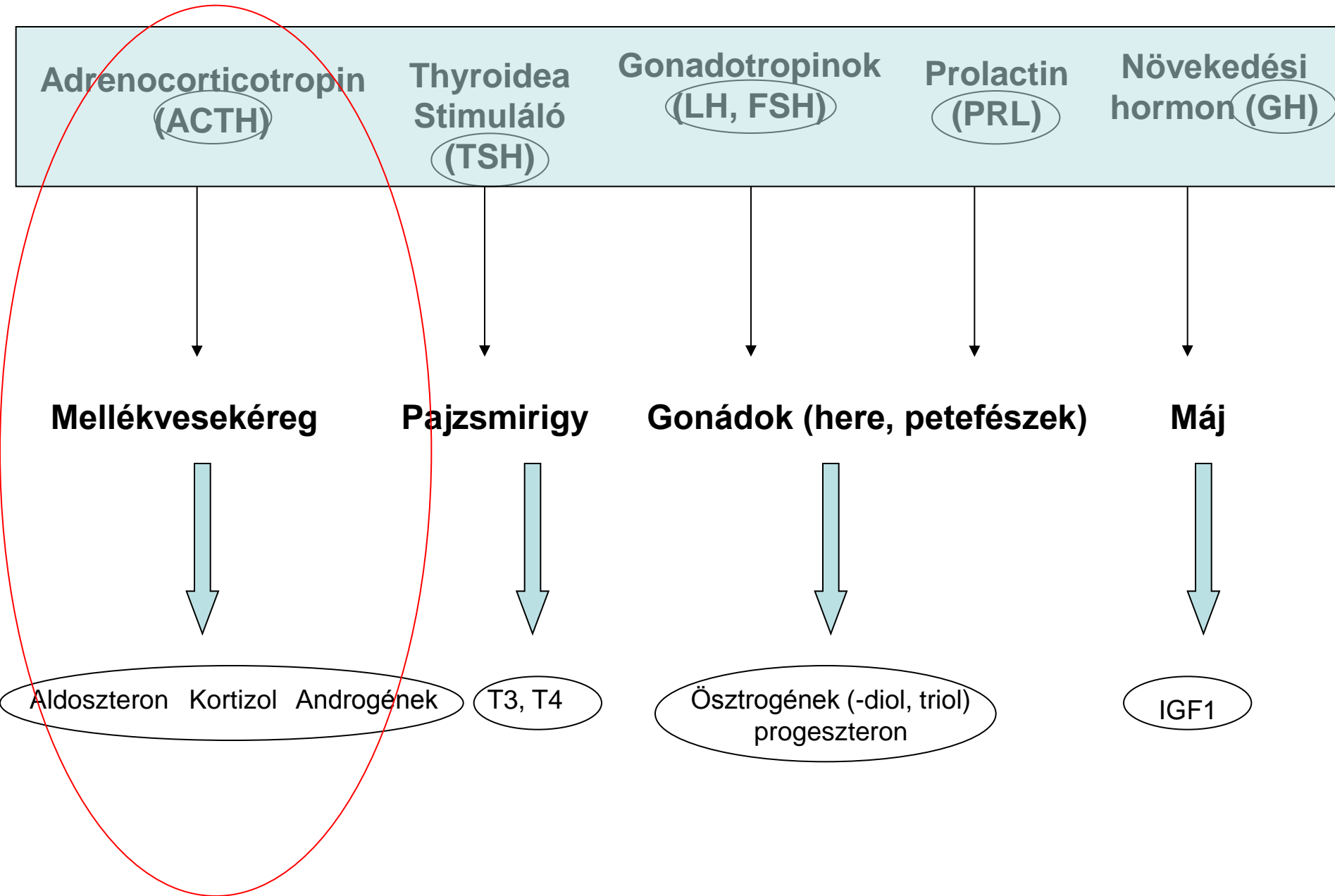
Periféria

Effektor hormonok

Célszervek (vegetatív idegrendszer, szív-érrendszer, máj, metabolizmus,
csontrendszer, váz-izomrendszer)

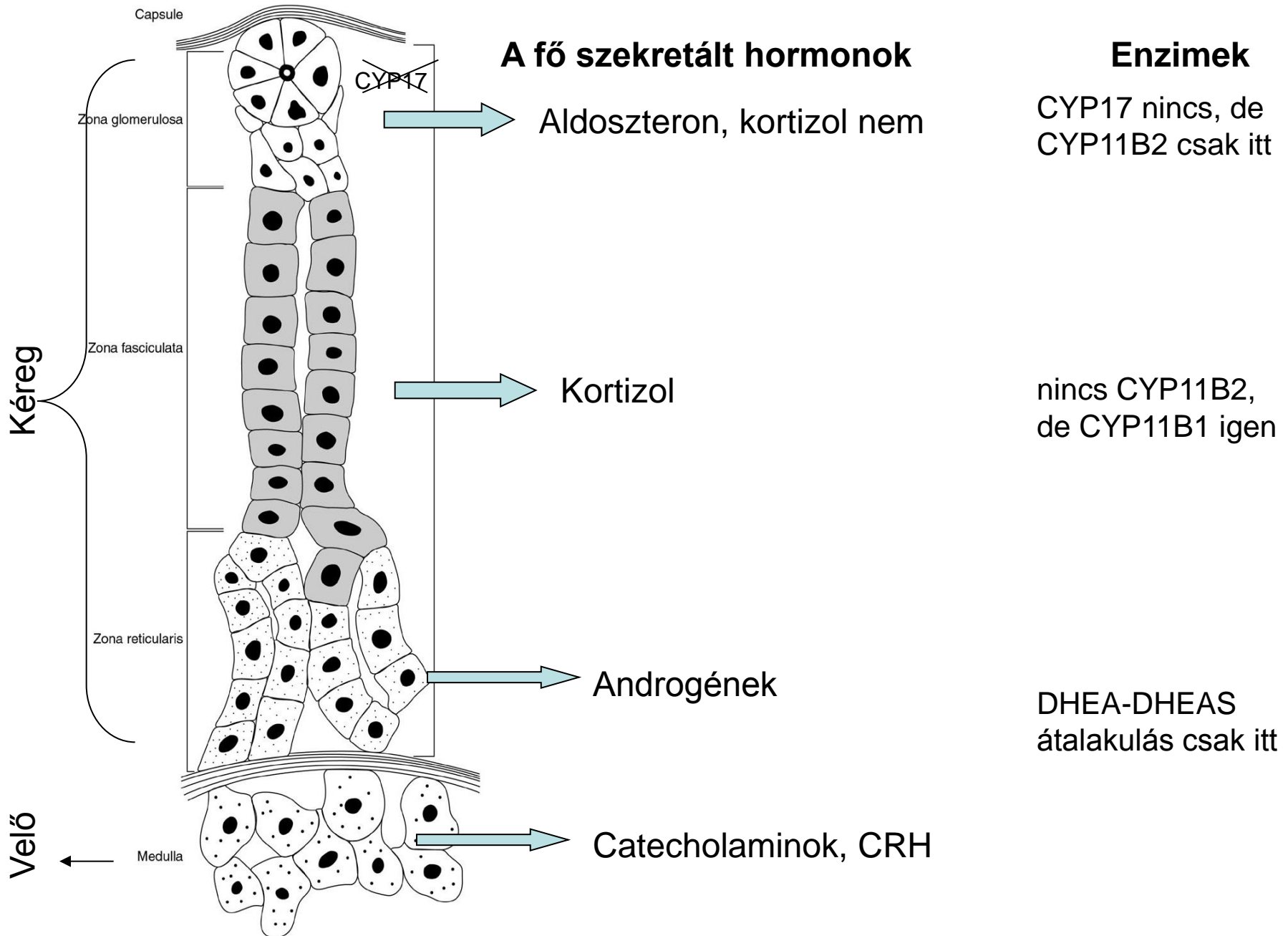


Hormonális szabályozási tengelyek



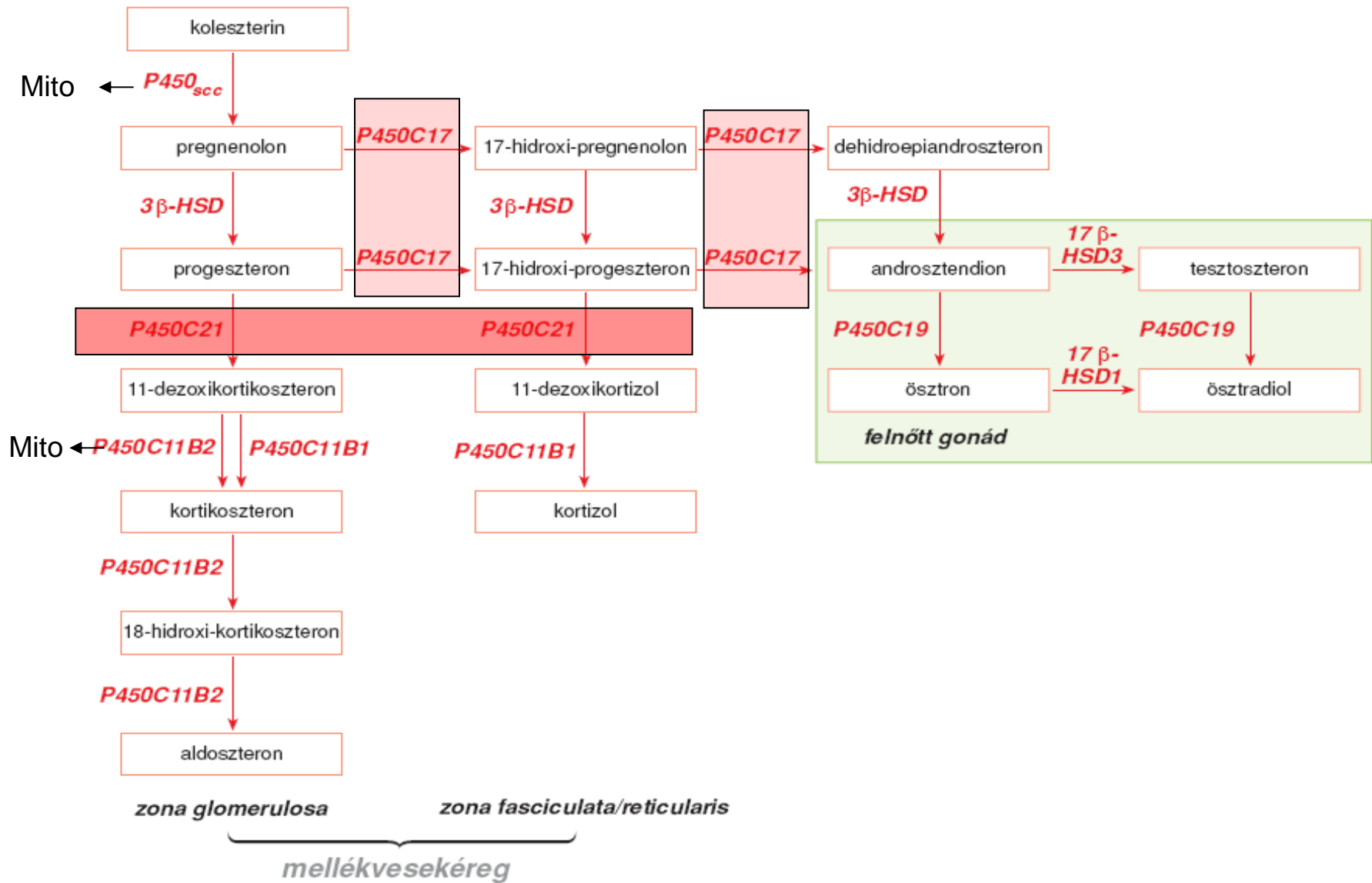
Mellékvese betegségek

Mellékvesekéreg szerkezete és hormontermelése



Szteroid bioszintézis

mitokondrium és a mikroszoma-endoplazmatikus hálózat elektron-transzportja szükséges



Mellékvesekéreg betegségei

- **Túlműködés:**

- daganatok
 - hormont termelők
 - hormon nem termelők

- **Alulműködés**

- szerzett károsodás
- *örökletes hiba*

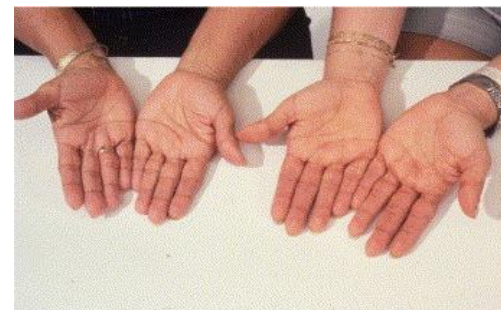
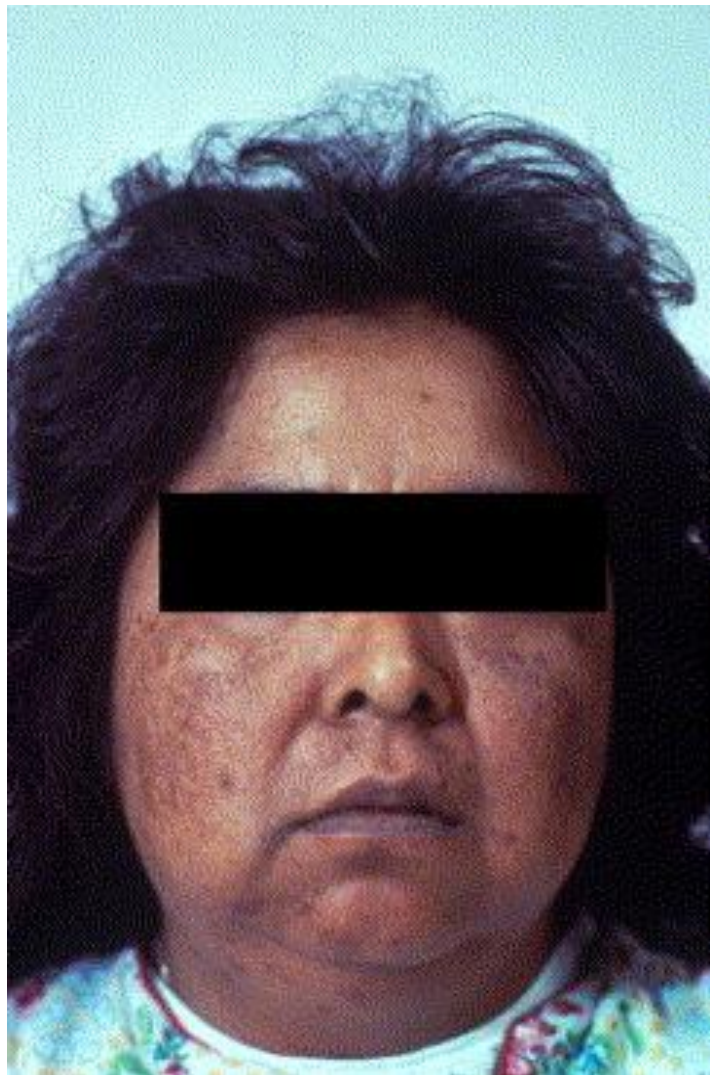
de

egyes hormonok hiányoznak, de a kórosan működő enzim mögötti termék pedig felszaporodik.

Primer mellékvesekéreg elégtelenség jellegzetes klinikai tünetei

• Gyengeség, fáradékonyság	100%
• Súlyvesztés	100%
• Gastrointestinalis tünetek	95%
• Hányás	85%
• Hányinger	80%
• Hasi fájdalom	30%
• Obstipatio	30%
• Diarrhoea	25%
• Hyperpigmentatio	95%
• Hypotonia vagy orthostaticus hypotonia	90%
• Hypoglycaemia	50%
• Anaemia	40%
• Só-éhség	20%
• Vitiligo	15%
• Izomfájdalom	15%
• Izületi fájdalom	10%

Bőr és nyálkahártya hyperpigmentáció Addison kórban

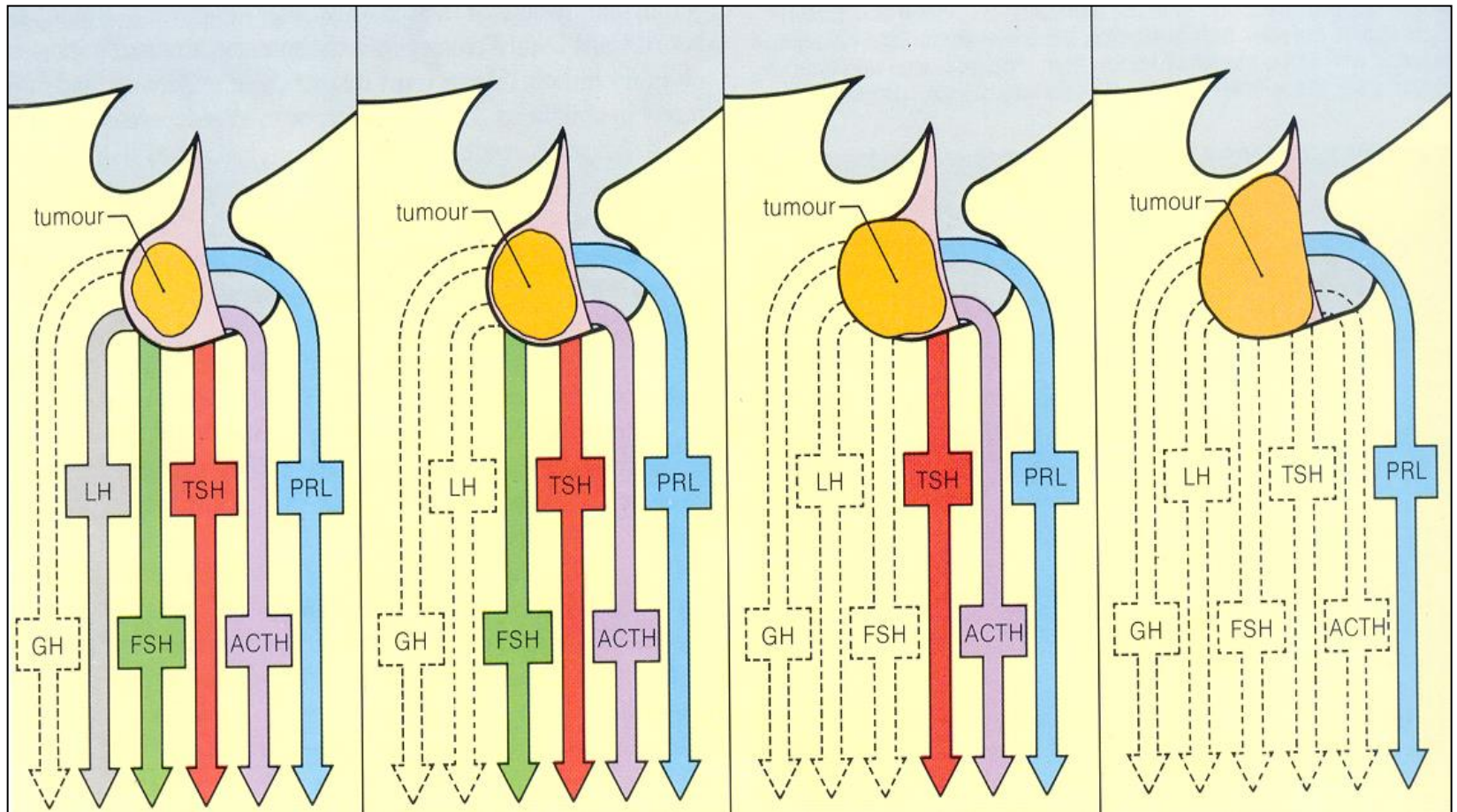


Panhypopituitarismus



- **Etiológia:** heterogén
 - Hypophysis daganat, egyéb sella-tájéki térszűkítő folyamat, gyulladásos és infiltratív betegségek, vérzés, sugárkezelés, trauma, műtét, veleszületett (gén-defektus)
- **Klinikai tünetek**
 - Szekunder hypadrenia, hypothyreosis, hypogonadismus, GH-hiány, diabetes insipidus
 - Plazma prolactin szint változó
- **Diagnózis**
 - Hypophysis hormon és perif. hormon
- **Kezelés**
 - Pajzsmirigy, mellékvesekéreg, nemi hormon, növekedési hormon
 - Dezmopresszin
 - túlادagolás esetén hyponatraemia

Hypophysis daganatokhoz társuló hypopituitarismus kifejlődése



↓
**Növekedésbeli
elmaradás**

↓
Hypogonadismus

↓
Hypadrenia

Addison kór diagnózisa: biokémiai tesztek

Biokémiai tesztek

- reggeli **plazma kortizol és ACTH**
(plazma kortizol ↓ and plazma ACTH ↑)
- **standard rövid corticotropin test** (plazma kortizol mérés a 0, 30 és 60 percben 250 µg ACTH1-24 iv adása után
(normális válasz: csúcs plazma kortizol >20 µg/dl)
- (plazma aldosteron, PRA, DHEAS)

Egyéb tesztek (etiológiától függően)

- Szteroid bioszintézis enzim elleni antitestek P450c21 (P450scc, P450c17)
- APS: társuló betegségek szűrése
- Fiúknál: very long chain fatty acids
- Onkológiai betegek: bilaterális mellékvese metasztázisok

Cushing kór

- **Ok:** hypophysis ACTH-termelő adenoma (leggyakrabban mikroadenoma)
- **Előfordulás:**
 - incidencia: 2,4/millió/év
 - prevalencia: 39/millió
 - nőkben 3-8-szor (egyes adatok szerint 15-ször) gyakoribb, mint férfiakban.
 - bármely életkorban előfordulhat, de típusos életkor: 25-45. életév
 - összes endogén Cushing szindróma mintegy 70 %-a
 - exogén (iatrogén) Cushing szindróma lényegesen gyakoribb

Cushing kór klinikai tünetei



rendszerint fokozatos lassú progresszió (ciklikus lefolyású is lehet)

- hízás, kóros zsír-eloszlása
- bőr vékony, sérülékeny, enyhén pigmentált, lilás-vörös striák, acnék, nőkben hirsutismus
- polyglobulia
- proximális izomgyengeség
- osteoporosis, gyakori csonttörés (gyermekekben növekedés elmaradás)
- vesekövesség, hypertonia, diabetes mellitus, lipid-anyagcsere zavar
- nőkben menstruációs zavarok, amenorrhoea, infertilitás
- infekció-hajlam
- psychés eltérések

Cushing kór/szindróma laboratóriumi diagnózisa

Hormonvizsgálatok döntőek

Stratégia:

1. **Hypercortisolismus bizonyítása**

24 órás gyűjtött vizelet **kortizol**

kis adag dexamethason teszt

plazma kortizol napszaki ritmus

nyál kortizol

2. **Cushing szindróma egyes formáinak elkülönítése**

(leggyakoribb 3 ok: Cushing kór, ectopiás ACTH-túlermelés kortizol-termelő mellékvese daganat)

- plazma ACTH
- nagy dózis dexamethason teszt
- CRH teszt (vasopressin, desmopressin, metopyron teszt)
- Kombinált tesztek (CRH + vasopressin)
- Sinus petrosus inferior vérvétel
- Képekalkotó vizsgálatok (sella MRI, mellékvese CT, (ectopiás ACTH-túlermelés gyanú esetén egyéb vizsgálatok)

Mineralokortikoid-termelés zavaraival járó betegségek

Mineralokortikoid hormonok valódi vagy látszólagos túltermelésével járó betegségek

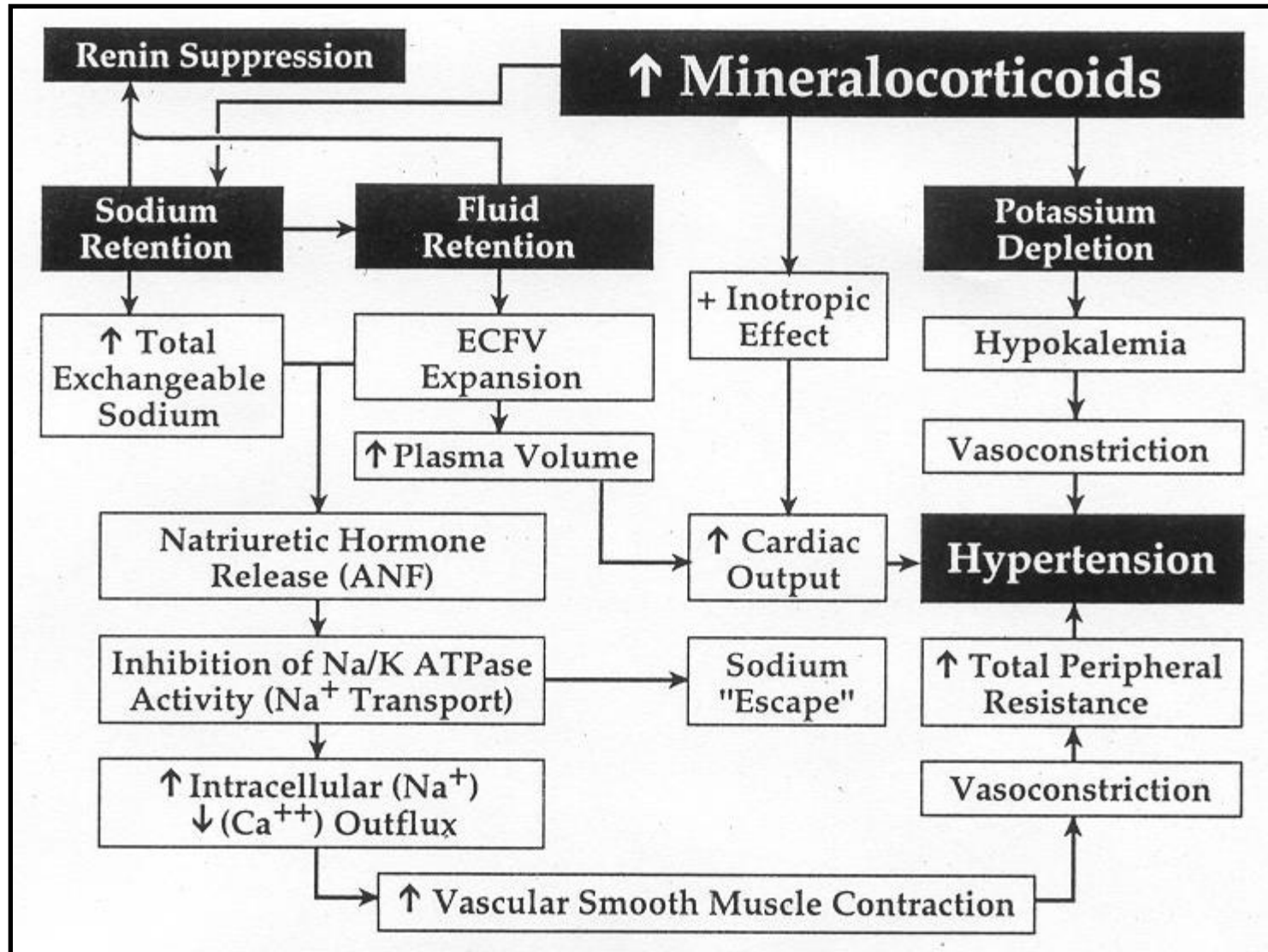
- Primer aldoszteronizmus
- Dezoxikortikoszteron-termelő mellékvesekéreg daganat
- Veleszületett mellékvesekéreg hyperplasia
 - 11β -hidroxiláz enzim defektus
 - 17α -hidroxiláz/ $17,20$ -liáz enzim defektus
- Kortizol rezisztencia
- Látszólagos mineralokortikoid túlsúly ("apparent mineralocorticoid excess", AME)
- 11β -hidroxiszteroid dehidrogenáz enzim II. típusának defektusa
 - örökletes
 - gyógyszer-indukált
- Mineralokortikoid receptor aktiváló mutációi
- Liddle szindróma
- Szekunder hyperaldosteronizmus

Primer aldosteronizmus (Conn szindróma)

Primer aldoszteronizmus klinikai tünetei

- Hypertonia (esetek 100%-ában)
- Hypokalaemia (esetek 50%-ában)
 - izomgyengeség, izomparalysis
 - szívritmuszavar, hypokalaemiás EKG-eltérések
 - polyuria, polydipsia
- Hypernatraemia (enyhe)
- Metabolikus alkalosis
- Cardiovascularis és cerebrovascularis szövődmények gyakoriak
- Metabolikus eltérések, diabetes gyakori

Primér aldoszteronizmus tüneteinek patomechanismusa



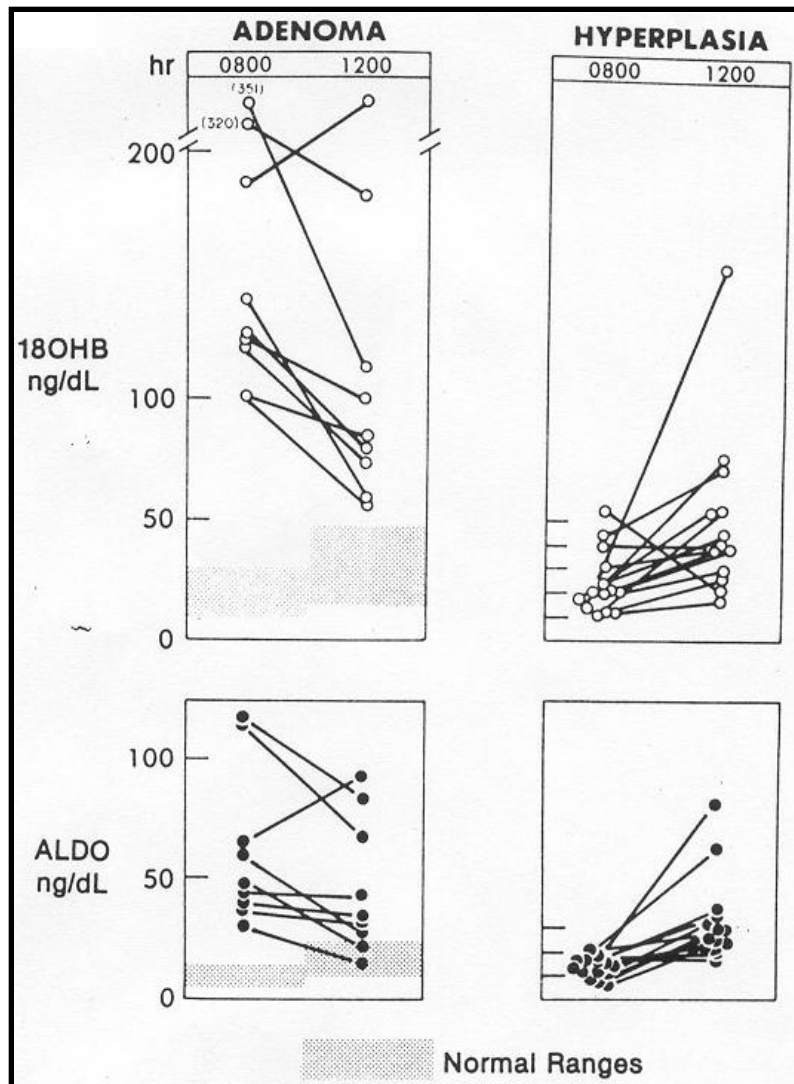
Primer aldoszteronizmus altípusai

Altípus	gyakoriság
Aldoszteron-termelő adenoma renin-dependens forma	35-65% (ritka)
Idiopathias hyperaldosteronismus	35-65%
Primer adrenocorticalis hyperplasia	<1%
Familiaris hyperaldosteronismus (I és II.)	<1%
Aldosteron-termelő mellékvese carcinoma	<1%
Ectopiás aldoszteron-termelő daganat	nagyon ritka

Primer aldoszteronizmus szűrésére és diagnózisára használt vizsgálatok

1957-től	vizelet aldoszteron-glucuronid (tetrazoliumkék festék)
1960-as évek	aldoszteron "szekréción rása" (kettős izotóp módszer)
1970-es évek	plazma aldoszteron RIA (papír kromatográfia) egyéb kortikoszteroidok (18-OHB, 18-OHDOC) PRA (angiotenzin I RIA) koleszterin-szcintográfia szelektív mellékvese véna katéterezés
1980-as évek	CT plazma renin koncentráció (IRMA)
1992-től	CYP11B1/CYP11B2 gén-kiméra (long PCR)

Primer aldoszteronizmus két fő típusa



Aldoszteron-termelő adenoma

súlyosabb klinikai tünetek
(hypokalaemia, hypertonia,
alkalozis, polyuria, polydipsia)

folyadék depléció/ortostasis
nem növeli az aldoszteron
szintet

aldoszteron prekursorok (18-
hidroxikortikoszteron) fokozott
képzése

sebészileg gyógyítható

Idiopátiás hyperaldosteronismus

enyhébb klinikai tünetek

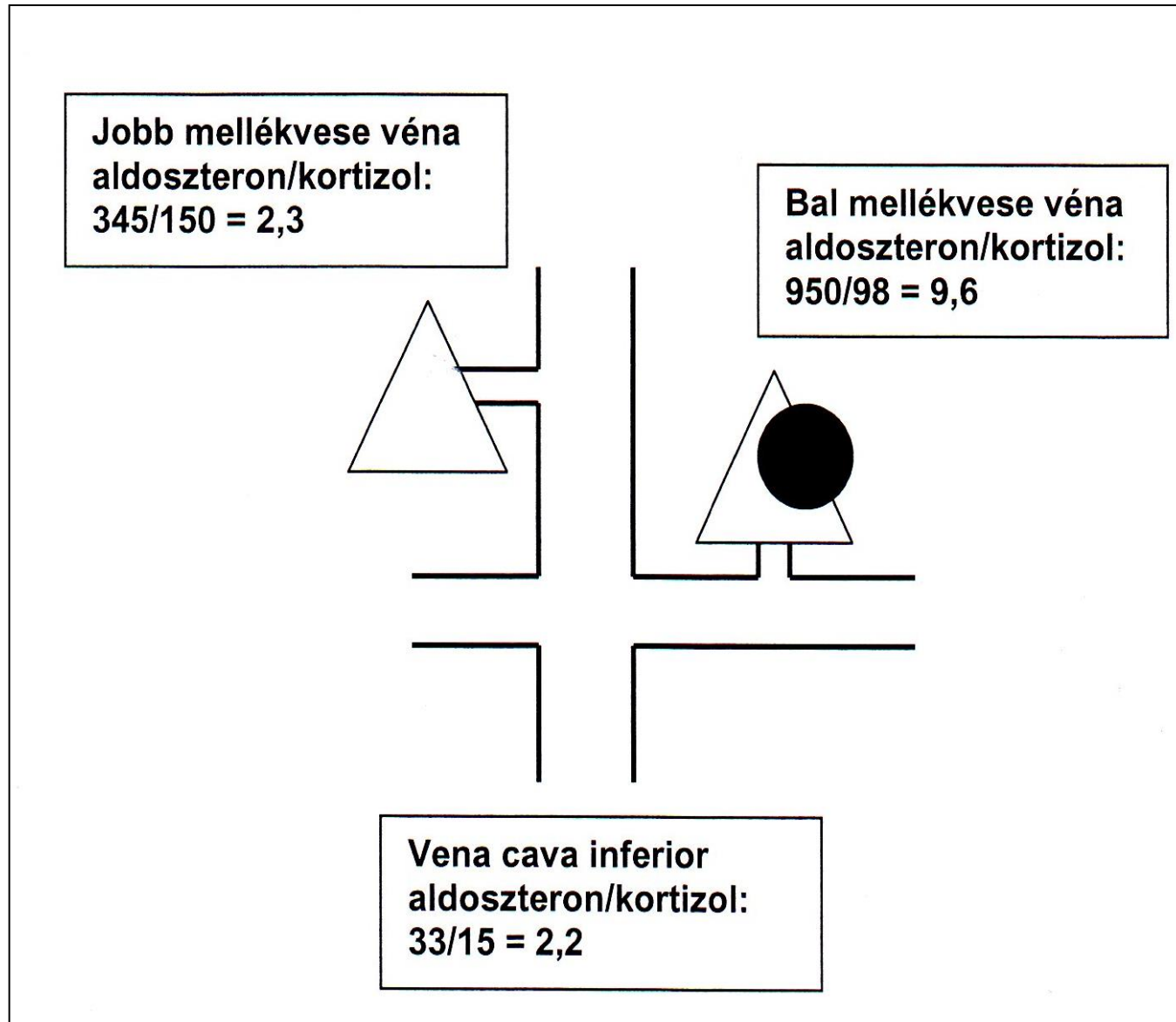
folyadék depléció/ortostasis
növeli az aldoszteron szintet

sebészileg nem gyógyítható

Primer aldosteronizmus – fontos klinikai szempontok

- Gyakorisága nagyobb mint gondolnánk
- Normokalaemiás esetek aránya nagy
- Felismeretlen (kezeletlen) esetekben súlyos vascularis szövődmények
- Aldoszteron-termelő adenoma esetek 50%-ában a CT nem kórjelző
- **Szűrővizsgálat:**
 - **plazma aldoszteron/PRA hányados (ng/dl vs ng/ml/óra > 20-25, ha a bazális plazma aldoszteron >14 ng/dl)**
 - normokalaemiás állapotban kell elvégezni
 - liberális só-fogyasztás mellett ajánlott elvégezni

Aldoszteron-termelő adenoma lokalizálása



Primer aldoszteronizmus gyakorisága

Nem szelektált hypertóniás betegek: 0.5-2%

Specialista centrumokban hypertóniás betegek:

Gordon (1984), Ausztrália (n = 199) 6.5%

Gordon (1993), Ausztrália (n = 52) 12.0%

Lin (1984), Anglia (n = 495) 16.0%

Lin (1999), Anglia (n = 125) 14.0%

Loh (2000), Singapur (n = 350) 18.0%

Rayner (2000), Dél-Afrika (n = 216) 32.0%

Fardella (2000), Chile (n = 305) 9.5%

Hypokalaemiás betegek aránya

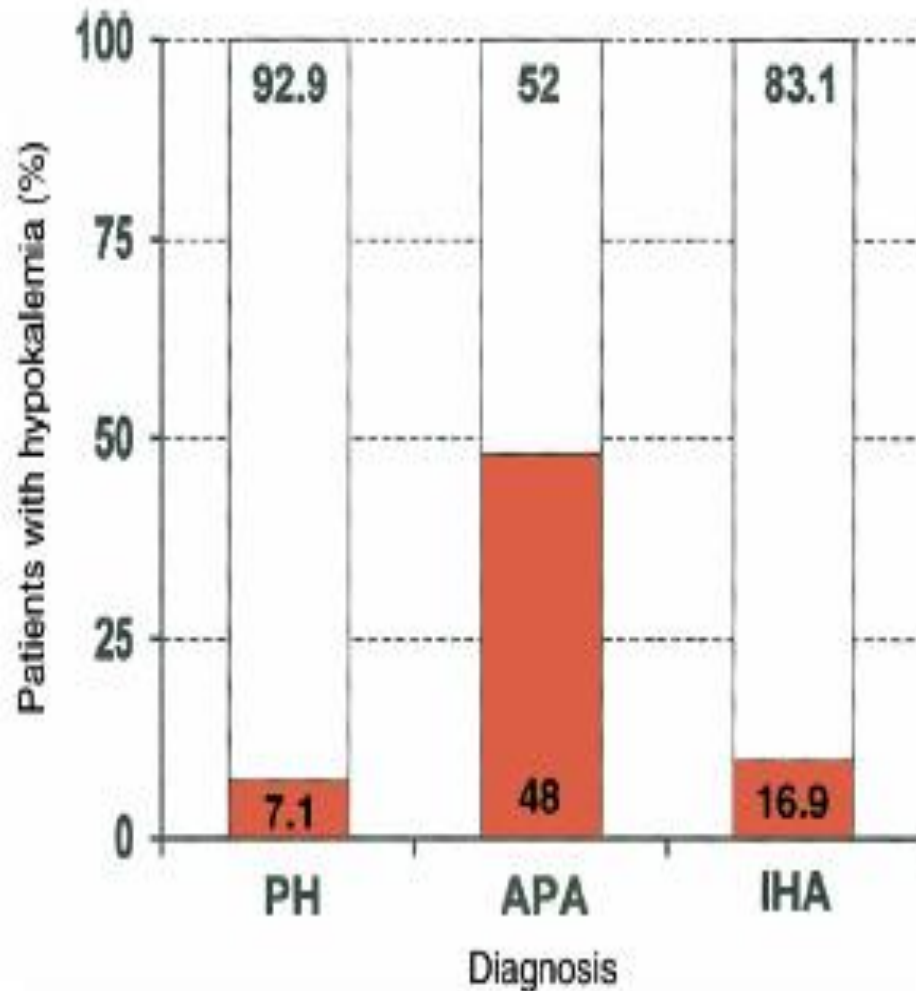
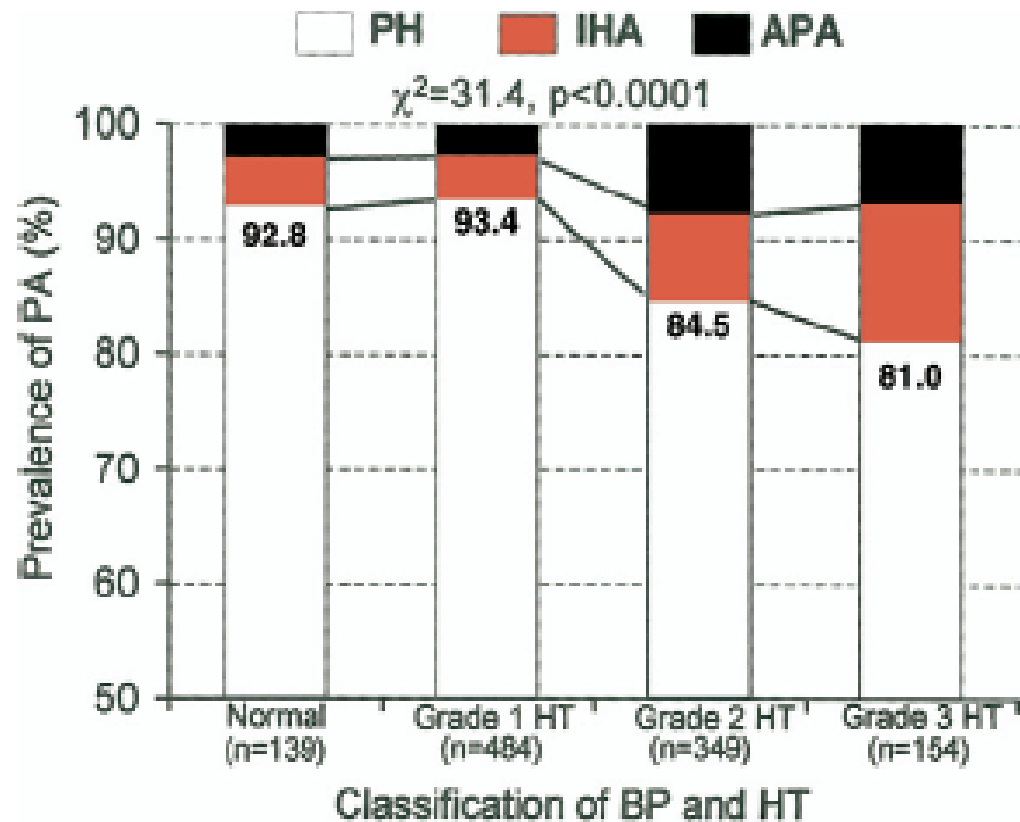


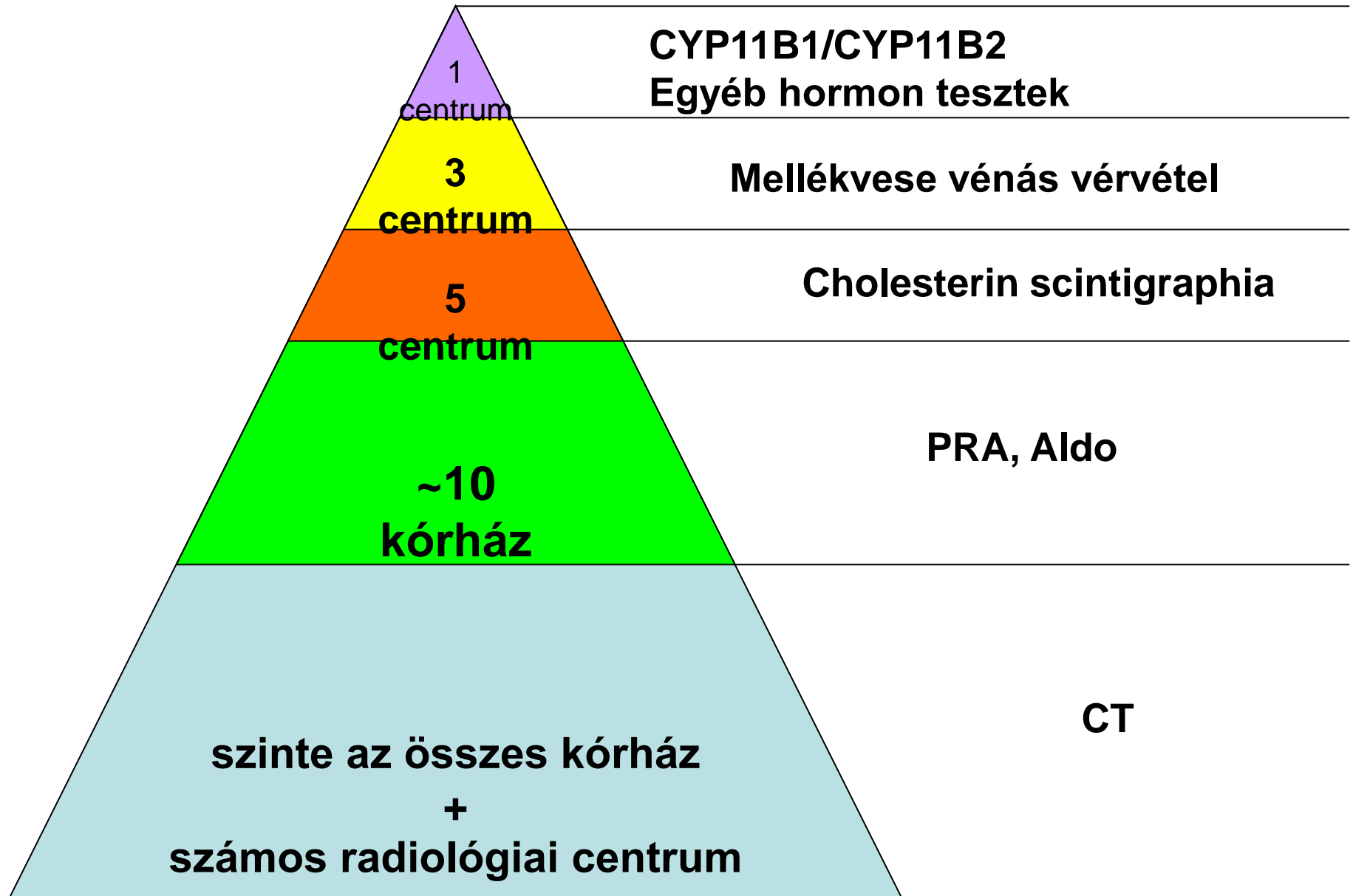
Figure 2. This bar graph shows that a substantial proportion of the patients with APA and IHA did not have hypokalemia (red bars) at the time of presentation. APA = aldosterone-producing adenoma; IHA = idiopathic hyperaldosteronism; PH = primary hypertension.



Primer aldosteronizmus gyakorisága a különböző súlyosságú hypertóniás betegcsoportokban

Figure 3. This bar graph shows the proportion of patients without PA (white bars), with IHA (red bars), and with APA (black bars) in the patients at the screening test. The proportion of patients with PA caused by both APA and IHA increased significantly (from 7.2% to 19.5%) with the increasing severity of hypertension. APA = aldosterone-producing adenoma; BP = blood pressure; HT = hypertension; IHA = idiopathic hyperaldosteronism; PA = primary aldosteronism; PH = primary hypertension.

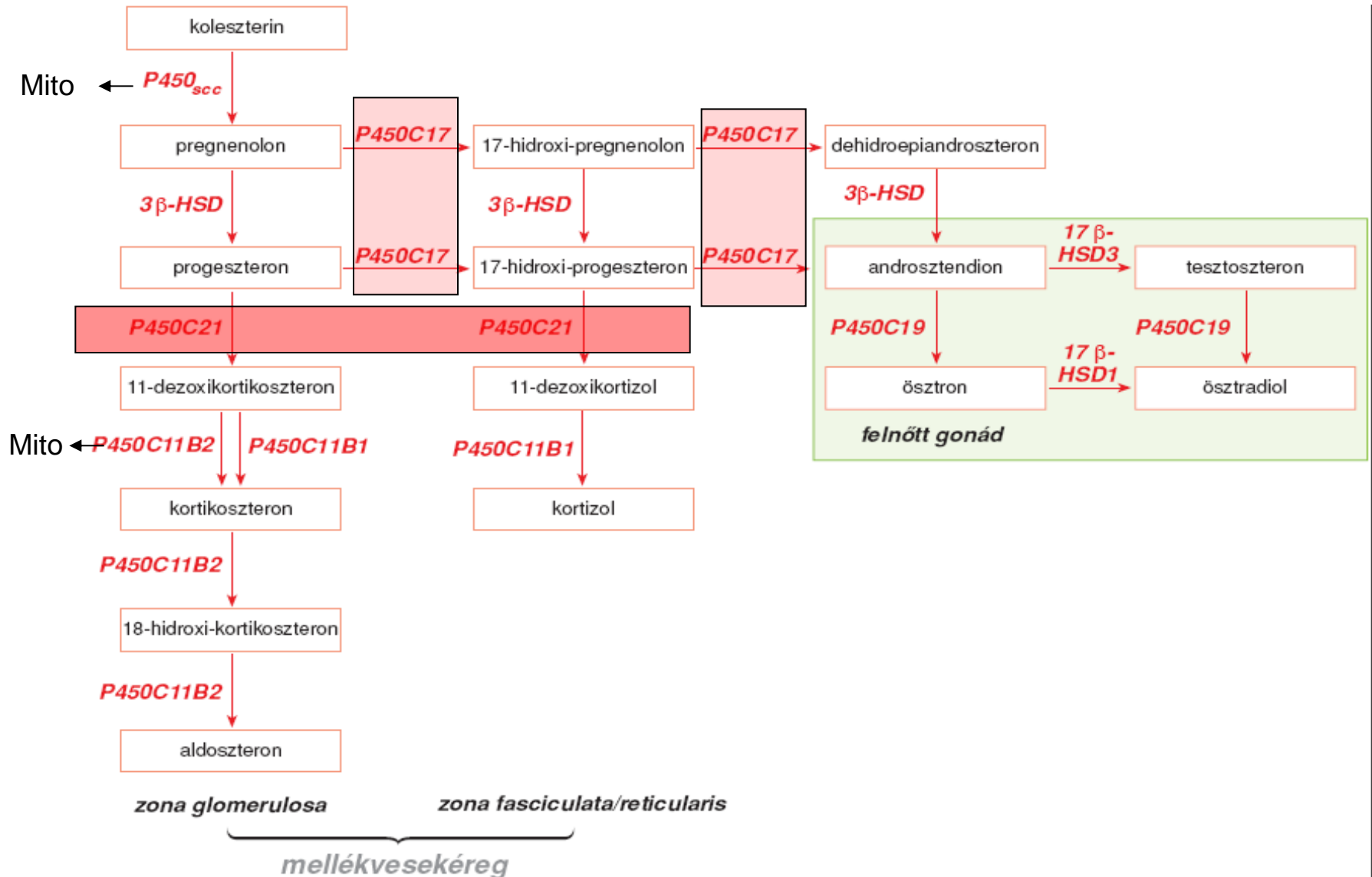
Diagnosztikai tesztek elérhetősége Magyarországon



Szteroid bioszintézis zavarai

- Újszülöttkorban, súlyos kórkép formájában jelentkezik
- Speciális hormonvizsgálatokkal különíthető el
- Autoszomális recesszíven öröklődik
- Genetikai vizsgálatokkal a diagnózis megerősíthető

Szteroid bioszintézis, mellékvesekéregben de mind a mitokondrium mind pedig az mikroszoma-endoplazmatikus hálózat elektron-transzportja szükséges



A congenitalis adrenalis hyperplasia háttérében álló géndefektusok

Gén	CYP21	CYP17	CYP11B1	StAR	CYP11B2
Incidencia	1:14.000	ritka	1:100000	ritka	ritka
Laboratóriumi jellegzetességek					
Kálium	↑	↑	↓	↑	↑
Vérnyomás/Nátrium	↓	↓	↑	↓	↓
Glukokort.	↓	↓	↓	↓	normális
Mineralokort.	↓	↓	↑	↓	↓
Androgének	↑	↓	↑	↓	normális
Ambiguos genitáliák	nőkben	férfiakban nőkben a pubertás hiányzik	nőkben	férfiakban nőkben a pubertás hiányzik	-
Akut mellékvesekéreg elégtelenség	igen	nem	ritka	igen	sóvesztés

A 21-hydroxylase defektus különböző formái

	Klasszikus sóvesztő	Egyszerű virilizáló	Nem-klasszikus
Életkor	újszülött	újszülött (lány) 2-4 éves (fiú)	gyerek/felnőtt
Genitália	fiú: normális lány: átmeneti	fiú: normális lány: átmeneti	fiú/férfi: normális lány/nő: virilizált
Incidencia	1:14000	1:60000	1:1000
Növekedés	-2-3SD	-1-2SD	normál
Hormonok			
Aldoszteron	csökkent	normál	normális
Kortizol	csökkent	csökkent	normális
17OHP	>1500 ug/l	800-1500 ug/l	150-800 ug/l* de ACTH stimuláció után lehet magas
Tesztoszt.	Emelkedett	emelkedett	változó, emelkedett
21-hydroxylase aktivitás	0%	1%	20-50 %
Tipikus CYP21A2 Mutációk	deléció, E6 cluster R356W, Gln318X	I172N, I2 splice	V281L P30L

Phaeochromocytoma

Prevalencia: hypertóniás betegek 0.01 – 0.1 %-a

Klinikai jellemzők:

- felismeretlen esetben **potenciálisan letális**
(diagnózis előtt fatális komplikációk)
- tartós morbiditást okozhat
- felismerés és műtét esetén **tartós gyógyulás lehetséges**

Vizsgálatok indikációi

Phaeochromocytoma lehetőségét fel kell vetni

- paroxizmális vagy rezisztens hypertonia
- Súlyos hypertonia vagy ismeretlen okú hypotonia műtét, anesthesia vagy angiographia alatt
- Családi anamnézisben phaeochromocytoma, multiplex endokrin neoplasia 2A vagy 2B, von Hippel-Lindau, neurofibromatosis vagy glomus tumor
- Véletlenszerűen felfedezett (látszólag tünetmentes) mellékvese daganat
- Idiopathias cardiomyopathia

Phaeochromocytoma: klinikai tünetek gyakorisága

Tünet	%	Tünet	%
Fejfájás	43-80	Szorongás	15-72
Verejtékezés	37-71	Hasi fájdalom	14-62
Palpitáció	44-71	Mellkasi fájdalom	0-50
Elsápadás	42-44	Dyspnoe	15-39
Hányinger	10-42	Kipirulás	4-19
Tremor	13-38	Pareasthesia, zsibbadás	11
Általános gyengeség	28	Látászavar	11-22

324 beteg adatai (JE Thomas et al., JAMA 1966, 197:754; Moorhead EL et al., JAMA 1966, 196:1107;. Ross EJ, Griffith DH, Q J Med 1989, 71:485.

Diagnosztikai feladatok

- **Biokémiai tesztek (katekolamin és katekolamin metabolit, chromogranin A)**
 - Legpontosabb: metanephrinek szelektív vizsgálata (plasma, vizelet)
 - Legkevésbé pontos: vizelet VMA
- **Lokalizáció (radiológiai képalkotó vizsgálatok)**
 - **Ultrahang** (klinikai tüneteket okozó adrenalis phaeochromocytoma ultrahang vizsgálattal gyakorlatilag **minden esetben** kimutatható)
 - CT, MRI, MIBG-szcintigráfia, (PET)
- **Genetikai ok keresés**
 - MEN2A, Neurofibromatosis 1-es típus, vonHippel-Lindau szindróma, phaeochromocytoma-paraganglioma szindróma)
- **Malignitás előrejelzés**
 - Metasztázison kívül egyéb biztos klinikai kritérium nincs

Gonádok laboratóriumi diagnosztikája

Gyakran az alulműködés diagnosztizálása céljából

Primér hypogonadismus (periféria károsodás)

Szekundér hypogonadismus (centrális stuktúra: hypophysis, hypothalamusz, de pl. hypothyreosis is)

Meghatározandó

- ösztradiol, progeszteron, tesztoszteron, SHBG, LH és FSH
- speciális esetekben: androszténdion, 17-hidroxiprogeszteron

Figyelembe kell venni:

- Menstruációs ciklus és gyógyszer (fogamzásgátló) szedést

Összefoglalás

A mellékvese betegségek kivizsgálása összetett feladat, klinikus és a labor szoros együttműködése szükséges

Speciális paraméterek, meghatározásuk drága, időigényes

Csak a rutin laboratóriumi eredmények birtokában javasolt kérni, „szűrésre” ezek a meghatározások nem javasoltak, csak a gondos klinikai kivizsgálás alapján indítható

Speciális esetekben a hormon meghatározások közül pl. a kortizol meghatározás Addison krízisben életmentő lehet (de pl. az ionok meghatározása jelzi a mellékvesekéreg elégtelenséget)

Az élettani szabályozási rendszerek átgondolásával kell kiválasztani a számos lehetőség közül mindig a legmegfelelőbbet. Gondoljuk végig, hogy mit üzenhet a laborlelet?