

Endokrinológiai vizsgálatok preanalitikai kérdései

Dr. Patócs Attila PhD.

Egyetemi docens

Semmelweis Egyetem Központi Izotóplaboratórium

MTA-SE „Lendület” Örökletes Endokrin Daganatok Kutatócsoport

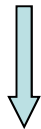
Kutatócsoport-vezető

A preanalitika hibák kiküszöbölése KÖZÖS érdek

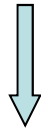
Hibás laboratórium eredmény oka:

kb. 80-90 %-ában pre- és postanalitikai okokból

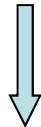
- kb 60-65 % PREANALITIKA



HIBÁS ÉREDMÉNY



ROSSZ DIAGNÓZIS



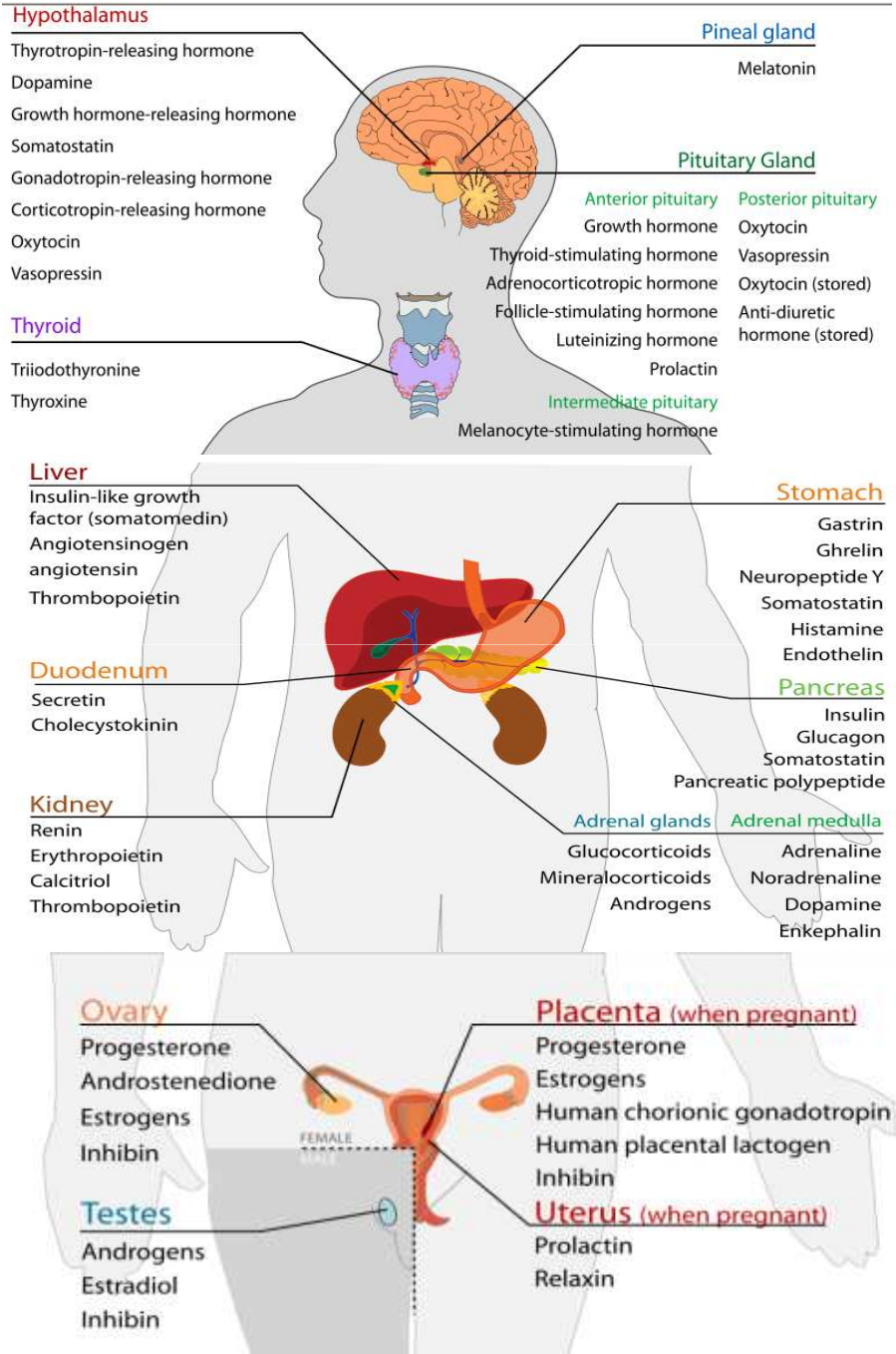
MEGELŐZHETŐ, hogyan?

Endokrin betegségek felismerése és gondozása

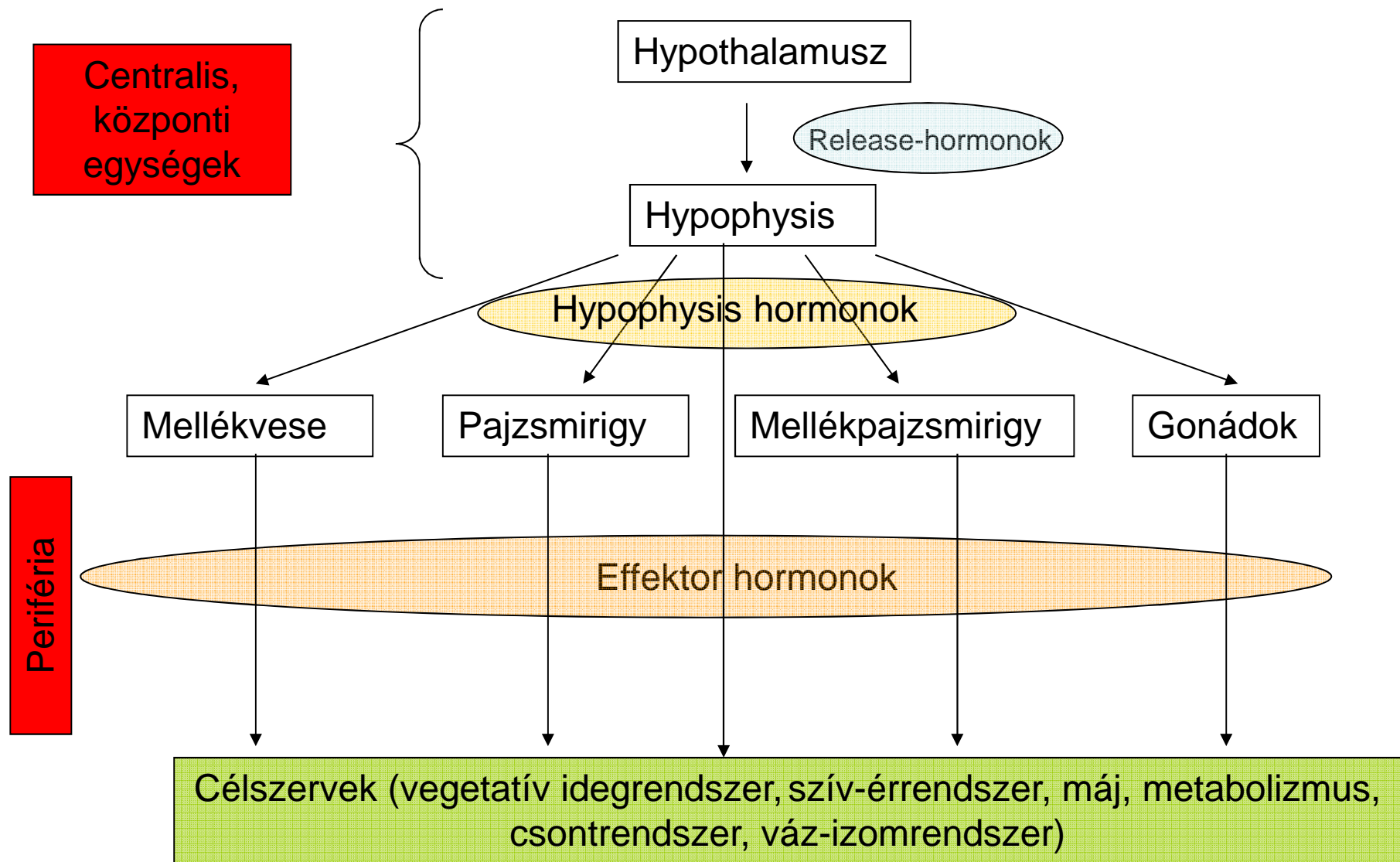
- **Gyakran jellegzetes anamnézis, tünetek, panaszok és külső jelek**
- **Gyakran tartós kezelés (gyógyulás után tartós megfigyelés) szükséges**
 - Hormonhiány rendszerint végleges
 - Hormontúltermelés kiújulhat
 - Több endokrin szervet érintő betegségek
- **Krízis-állapotok alakulhatnak ki**
- **Endokrin betegekben más betegségek**

Centralis,
központi
egységek

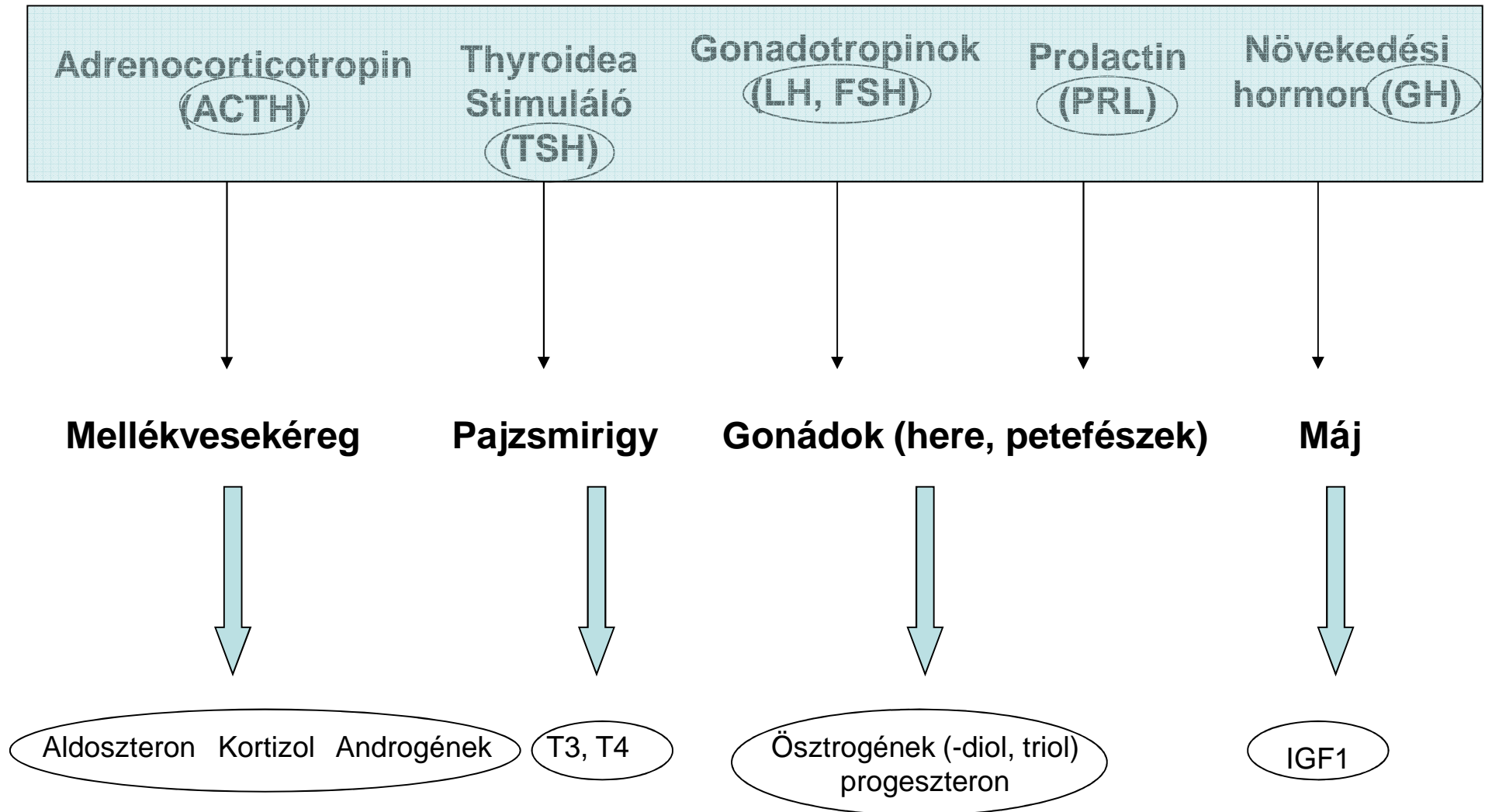
Periféria



Endokrin rendszer felépítése



Hormonális szabályozási tengelyek



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 , katekolaminok és ezek metabolitjai

Nyálból:

- szabad hormonok (kortizol, 17OHP)

Mennyiség

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

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)

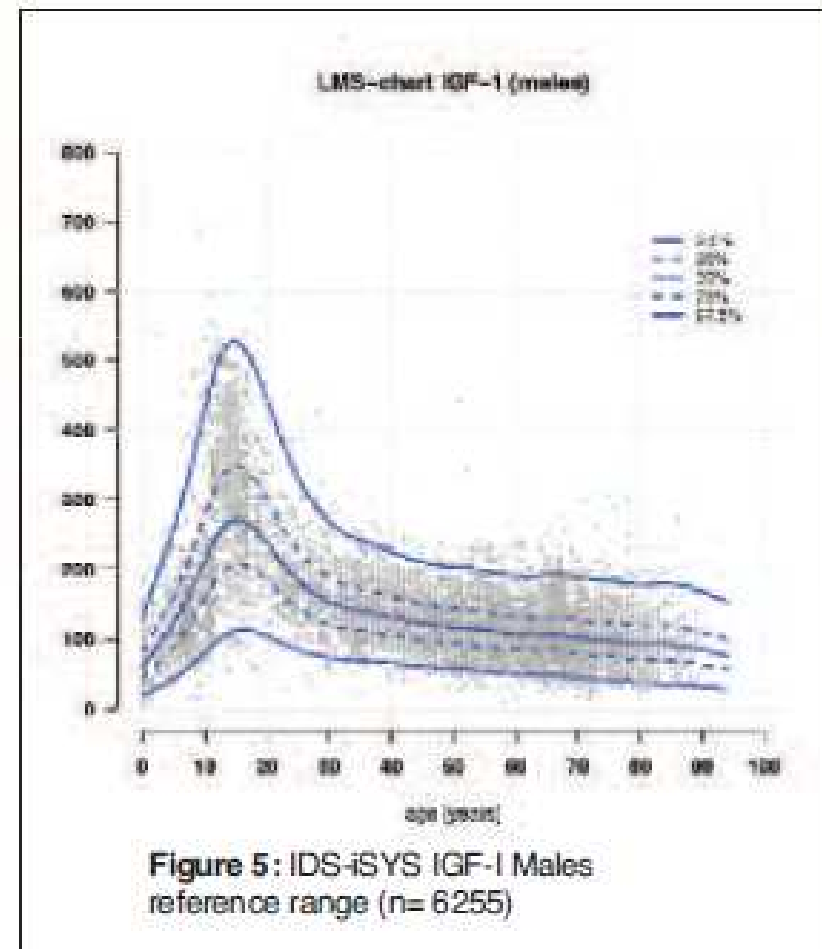
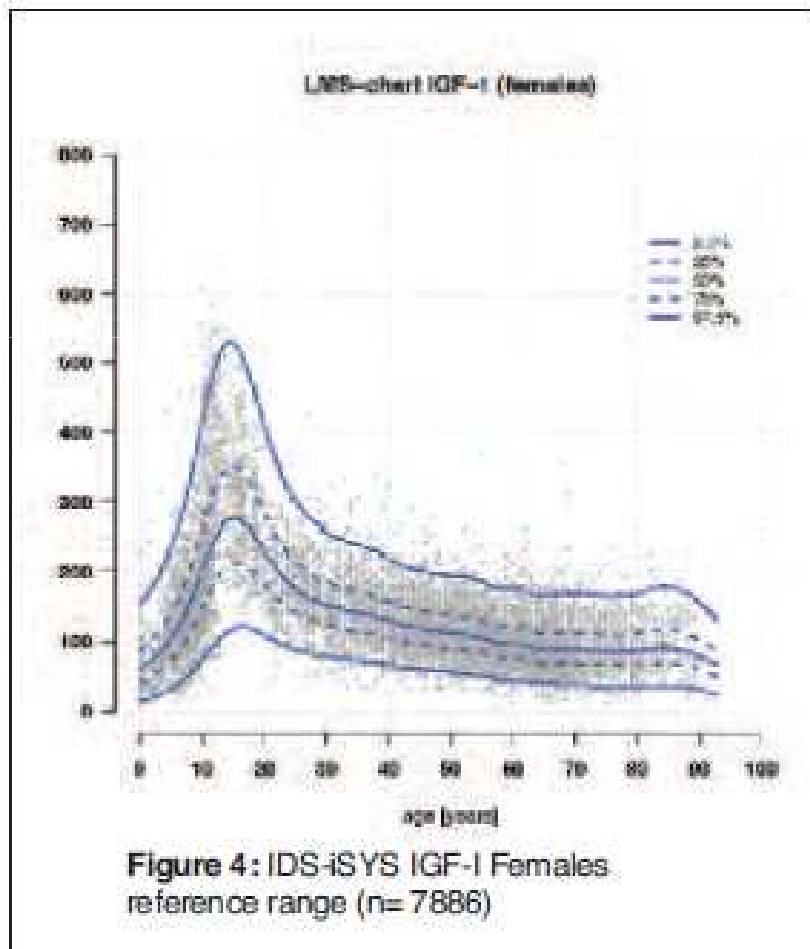
Beteg, mint hibaforrás

Fiziológiás állapotok, melyek befolyásolják a hormonvizsgálatokat:

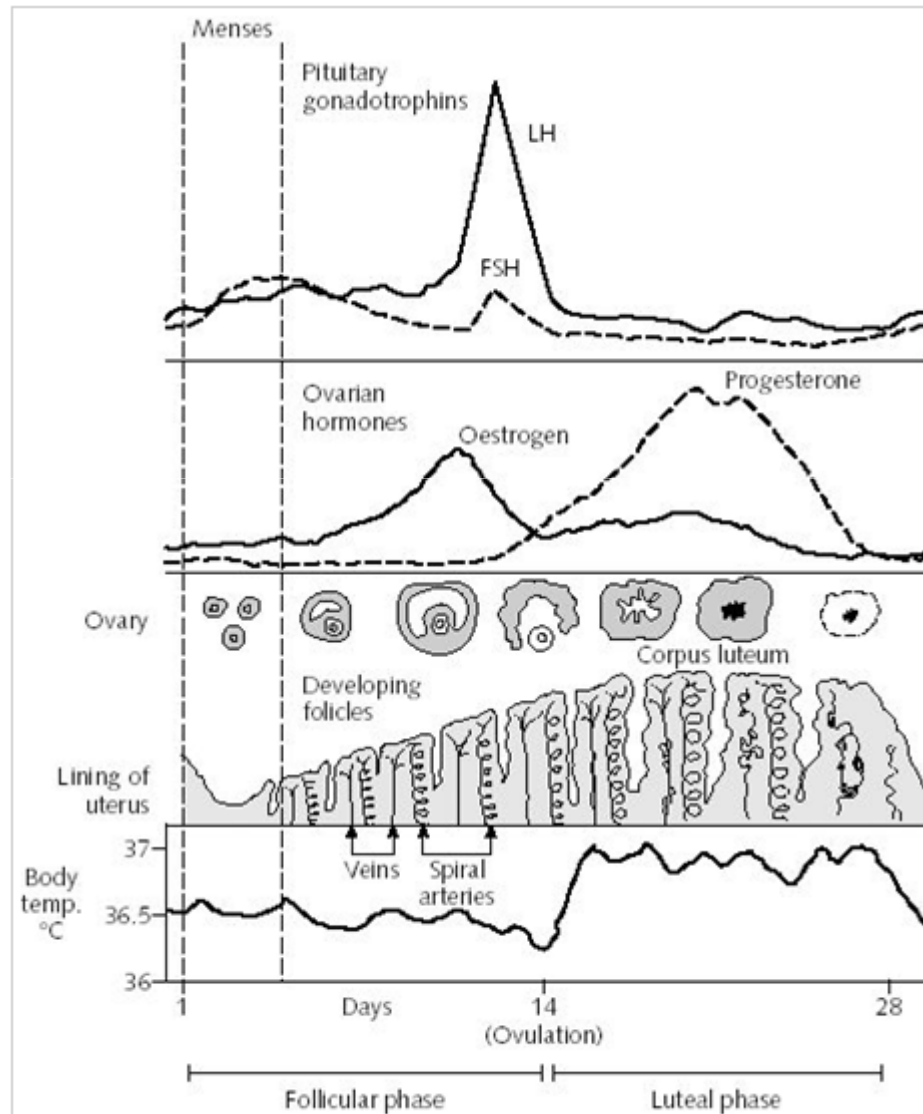
- életkor
- terhesség
- menstruációs ciklus
- alimentáris állapot
- a vizsgált hormonok napszaki ritmusa
- stresszhatás (pl. renin aktivitás, catecholaminok)

A mérés elrendelésekor ezeknek a paramétereknek a figyelembe vételéről a vizsgálatokat elrendelő orvos és a vérvételért felelős személyzet a felelős.

A Szérum IGF-1 szintjének változása a nem és az életkor függvényében



Hormon szintek változása a menstruációs ciklus függvényében



A növekedési hormon (GH) és az IGF-1 sérum szintjének napszaki és fiziologiás variabilitása

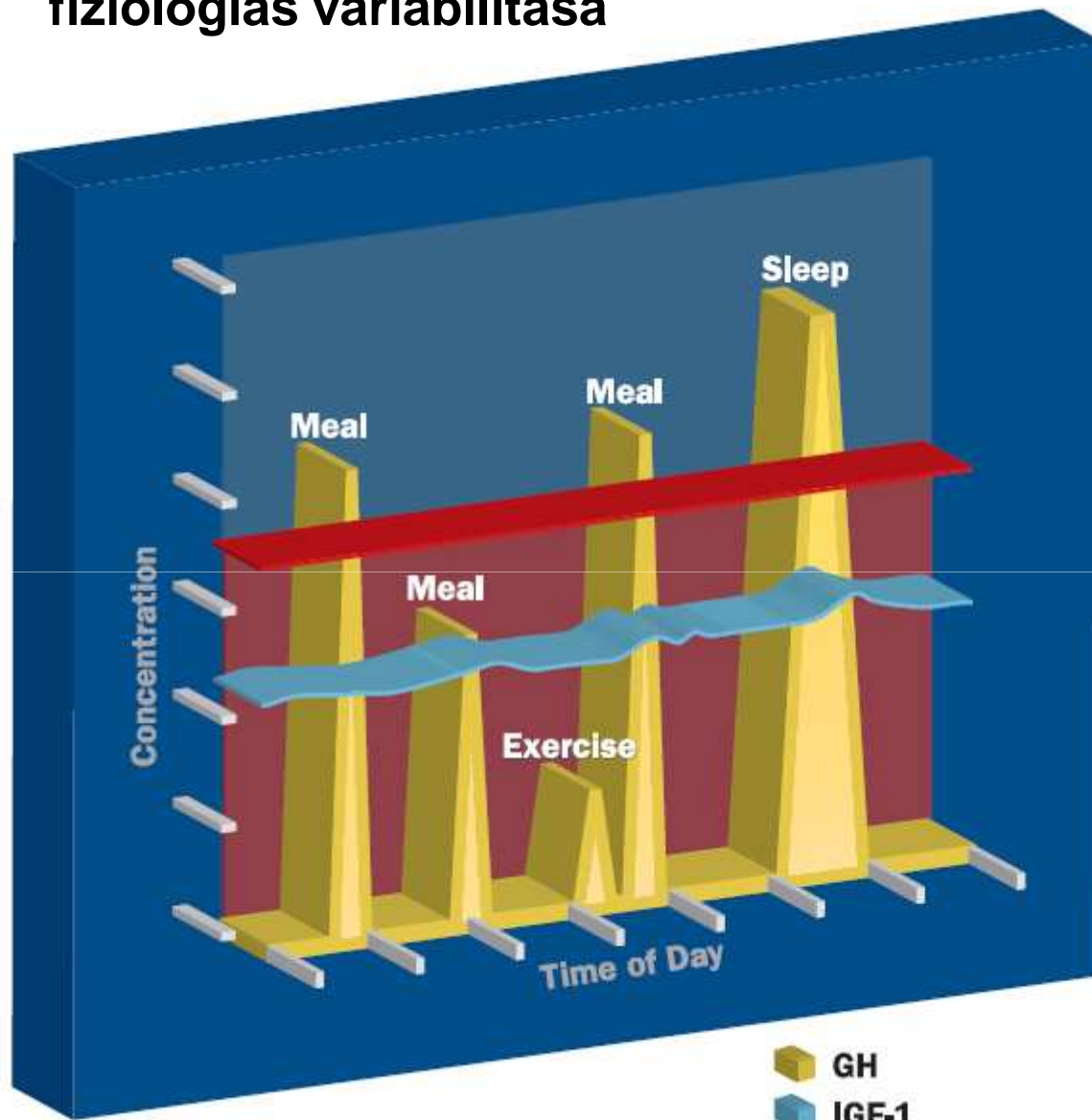
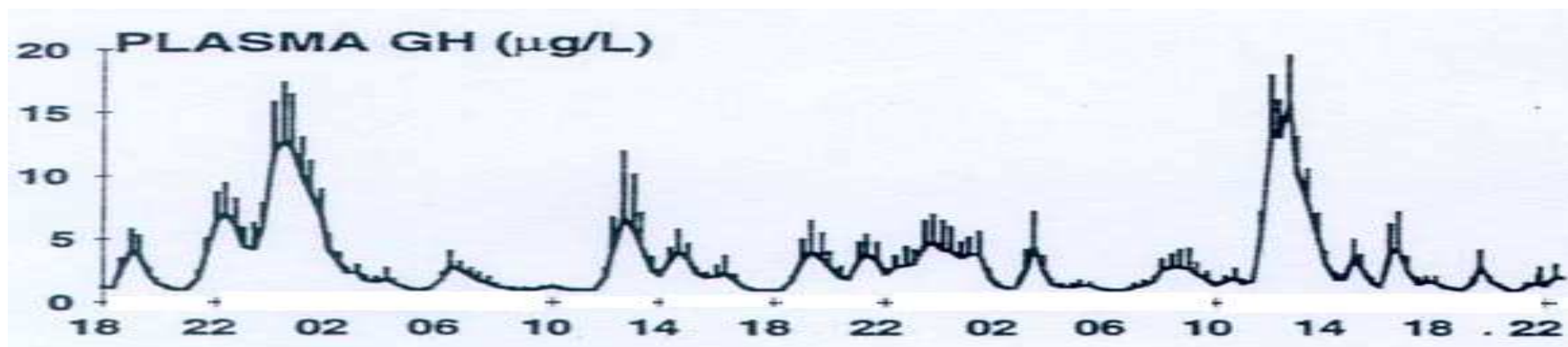


Figure 2. Normal variability of diurnal secretion of GH and IGF-1.

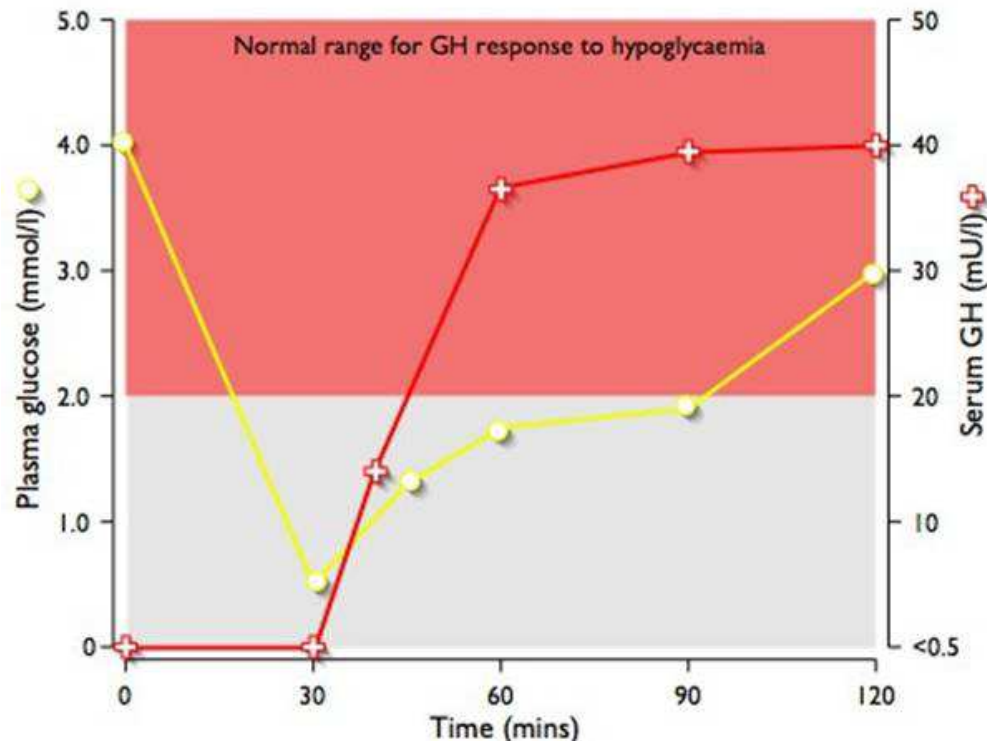
GH elválasztás pulzatis: adott pontban levett vérminta diagnosztikus értéke csekély



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 hGH szint diagnosztikus értéke kicsi.**

A keringésben található GH fő stimulusai: vércukor, inzulin, Ghrelin

A dinamikus tesztek elméleti háttere általában egy fiziológias ingerre alapozott vizsgálatok.



OGTT: orális glukóz tolerancia teszt

ITT: inzulin hypoglikémia teszt

OGTT során elvárjuk a GH szupressziót, akromegália diagnózis
ITT: során elvárjuk a GH emelkedést, GH-hiány diagnosztizálása

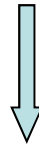
A hGH meghatározása dinamikus tesztek követően

A növekedési hormon (GH) szekréciója pulzatis, felezési ideje 19 perc



Egy mérés - nem mérés!!!

Provokációs tesztek



Inzulin

arginine,
levodopa (L-dopa)
arginine plus Ldopa
arginine plus GHRH
glucagon



insulin tolerance
test (ITT)

arginine-GHRH a legjobbak
cut-off <5 µg/L –os értéknél a
legjobb szenzitivitás

Közös jellemzőjük: egyik szenzitivitása és specificitása sem 100%

A Szérum IGF-1 szintjének változása a nem és az életkor függvényében

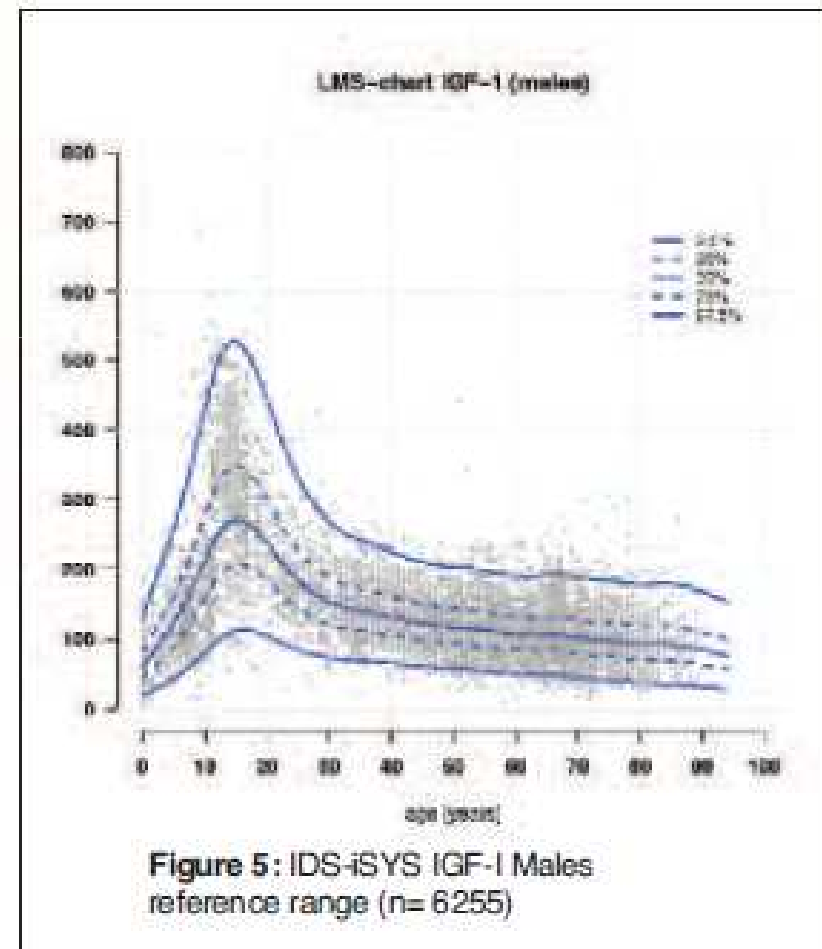
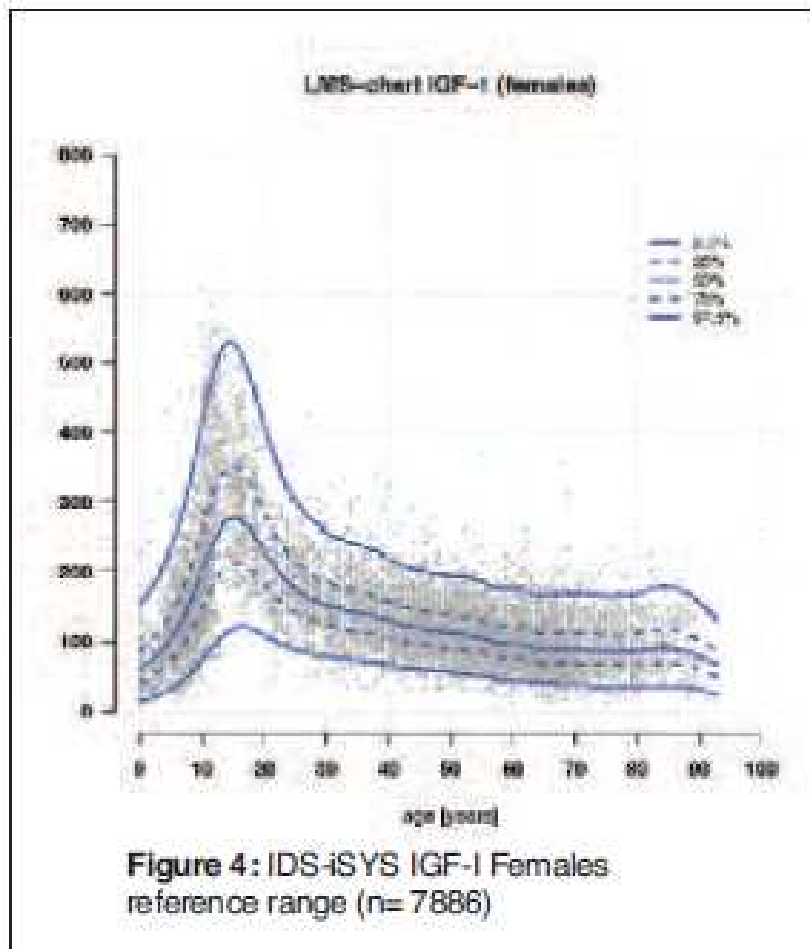
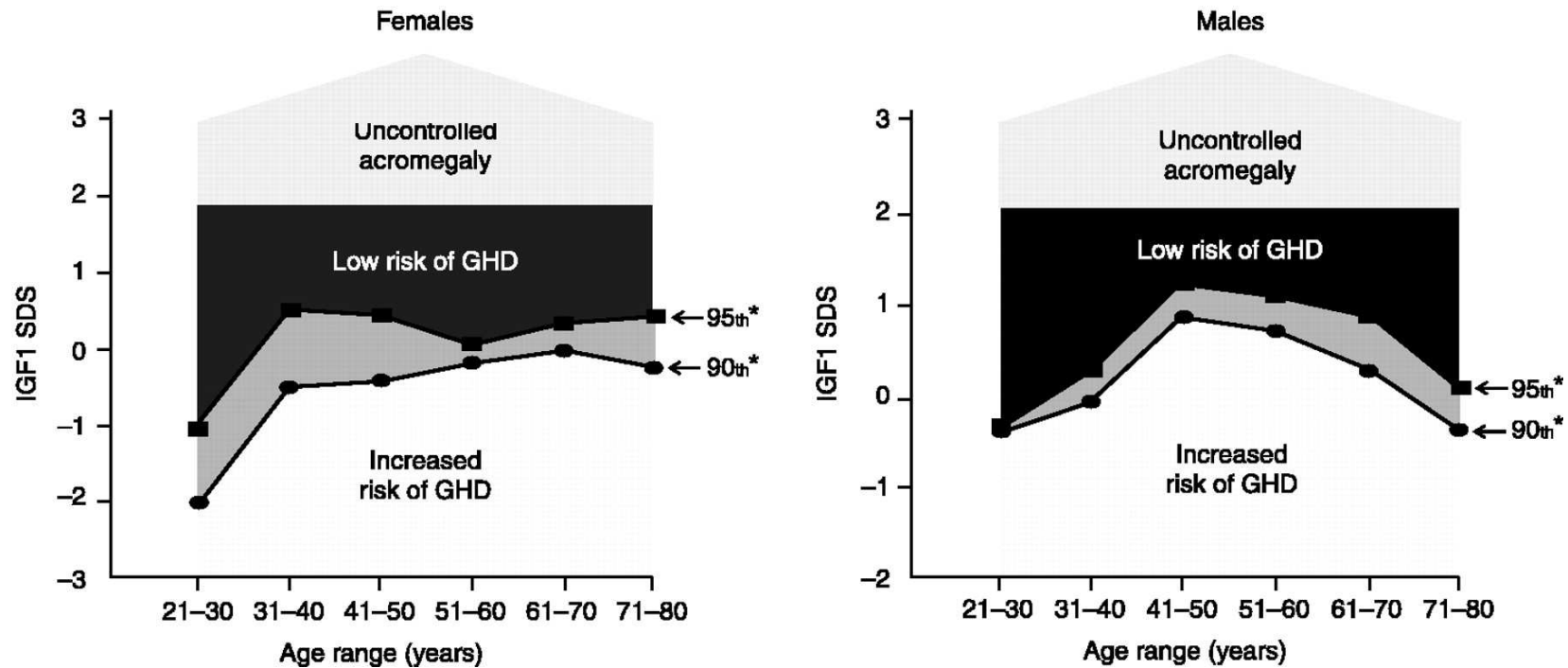
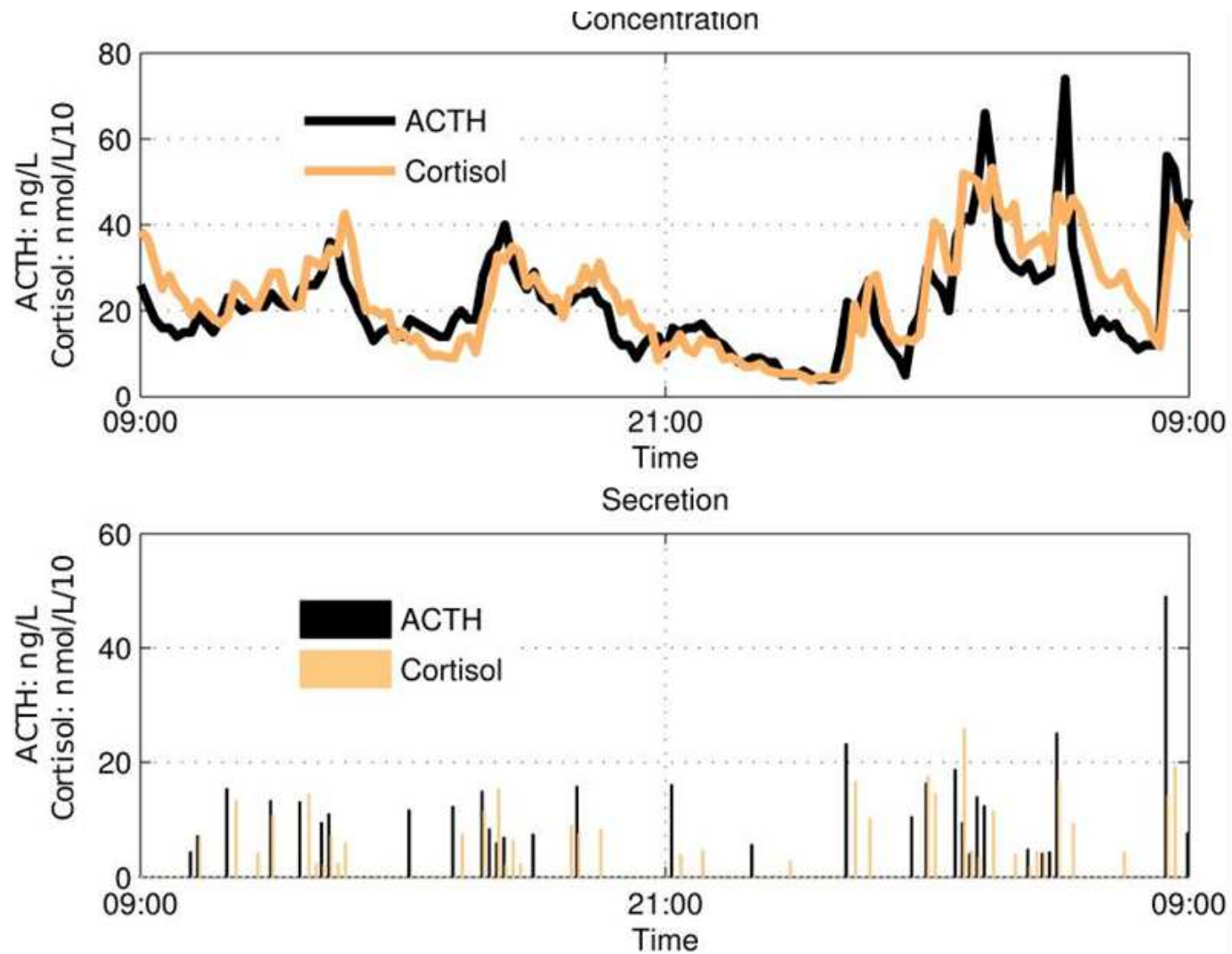


Figure 1 Age-related IGF1 SDS 90 and 95th percentiles for GHD in (a) females and (b) males illustrated as a ‘GHD risk estimate plot’, which may aid dose–titration of treatment during the management of GH disorders in adulthood. *Denotes percentiles.

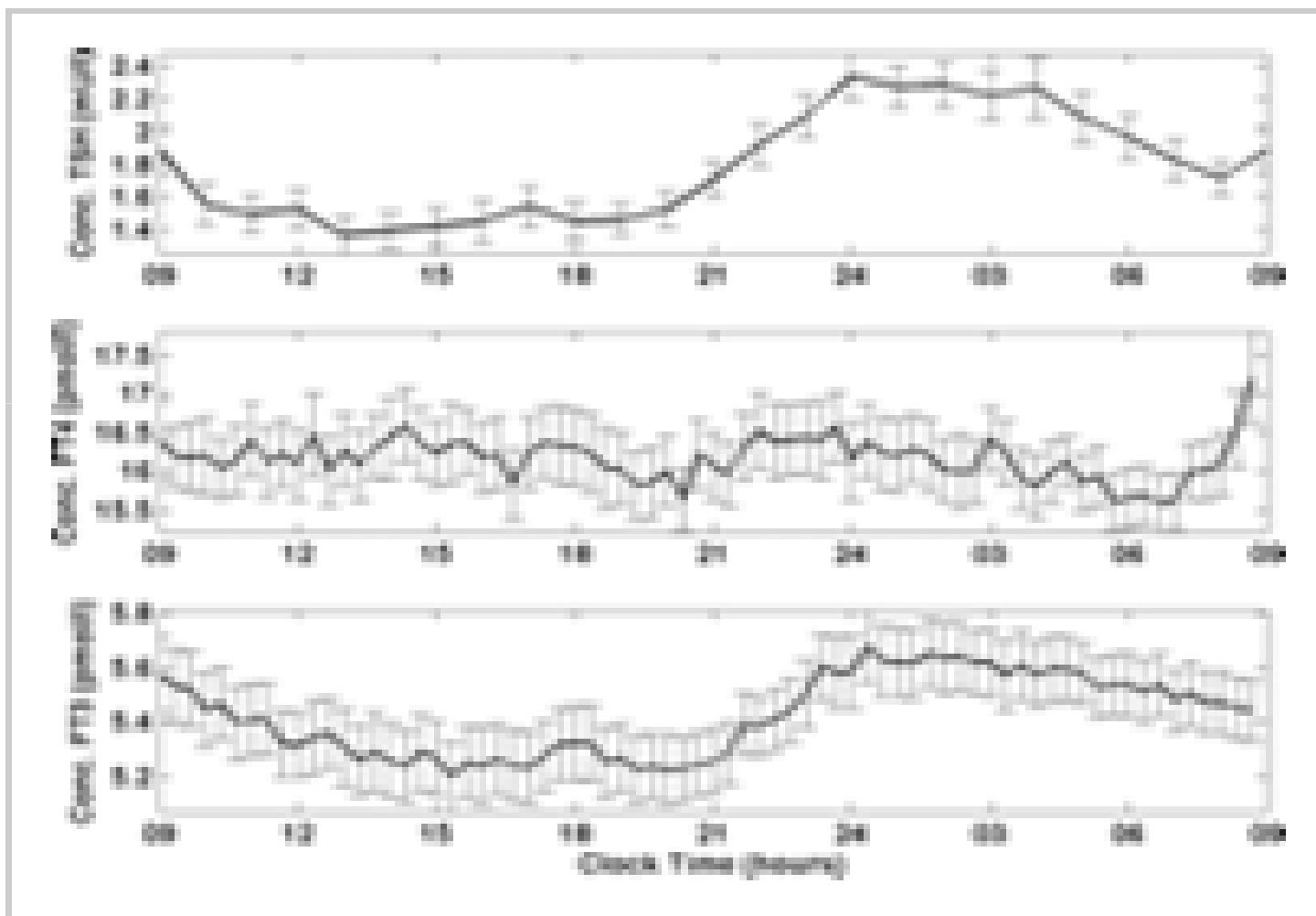


Mukherjee A , and Shalet S M Eur J Endocrinol 2009;161:S33-S39

ACTH és kortizol napszaki ritmusa



TSH és szabad pajzsmirigy hormonok napszaki ritmusa



Gyógyszeresedés befolyásolja a szérum CGA és gastrin szinteket

proton-pumpa gátlók szedésekor

CGA, referencia felső határa: 98,1

	Low-dose PPI (n = 11)	Standard-dose PPI (n = 21)	High-dose PPI (n = 22)	Kruskal-Wallis (analysis of variance)
Day 0	49.1 (11.4–98)	39.6 (18.7–95.1)	41.3 (17.7–82.5)	p = NS
Day 5	87.9 (20.8–300.8)	88.9 (21.3–209.89)	145 (25.1–413.8) ^a	p = 0.0035
Day 10	117.8 (27.2–345.6)	126.9 (38.3–429.2)	210.64 (54.7–751.4) ^b	p = 0.0056
Day 28	146 (25.6–237)	133 (22.6–430)	243.7 (75.9–781) ^{c, d}	p = 0.0004

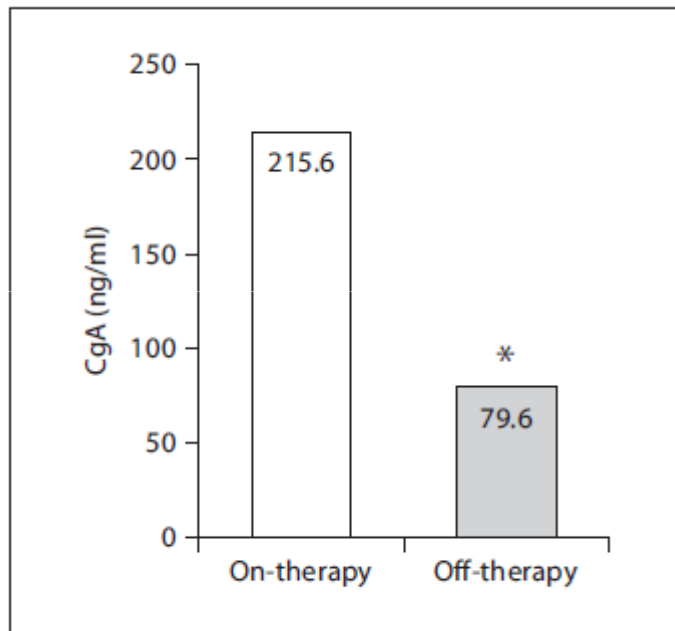
^a p < 0.05 high-dose vs. standard-dose and low-dose PPI; ^b p < 0.05 high-dose vs. standard-dose and low-dose PPI; ^c p < 0.05 high-dose vs. low-dose PPI; ^d p < 0.001 high-dose vs. standard-dose PPI.

Gastrin

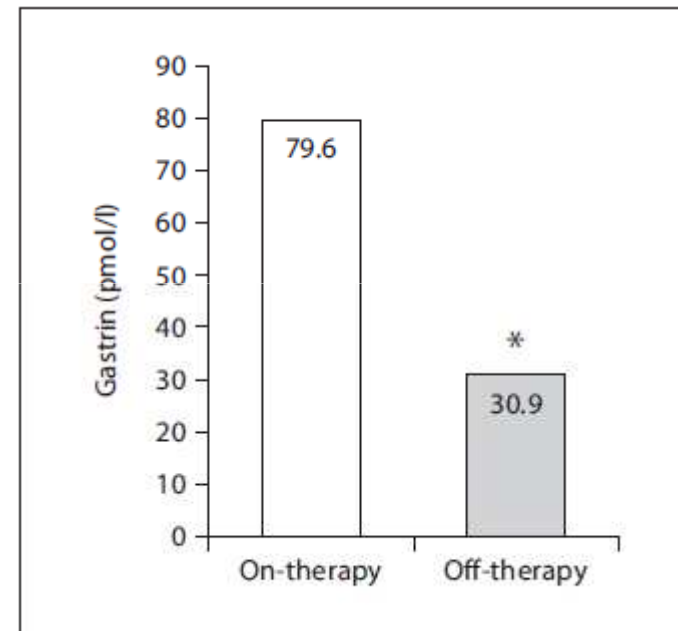
	Low-dose PPI (n = 11)	Standard-dose PPI (n = 21)	High-dose PPI (n = 22)	Kruskal-Wallis (analysis of variance)
Day 0	36.5 (6.2–51)	31.7 (8.3–54)	29.2 (6.4–53)	p = N.S.
Day 5	39.4 (16.6–67)	47.4 (8.7–128.9)	46.22 (25–165.2)	p = N.S.
Day 10	41.7 (4.8–83.1)	43 (25.3–240.5)	53.55 (20.7–367.9)	p = N.S.
Day 28	41.3 (20.7–80)	59.4 (25.5–241)	63.91 (30.5–341)	p = 0.06

Szérum CGA és gastrin szintek proton-pumpa gátlók szedésének abbahagyása után

CGA



Gastrin



Helyes mintavételezés: VÉR

A vérvétel módja

- flebotómus szakember
 - csősorrend: sima → citrát → Li heparin → EDTA → fluoridos cső
 - Beteg oldal, stressz kerülése (érdemileg befolyásolja a stressz-responzív hormonokat: kortizol, ACTH, GH, prolaktin, catecholamines, arginine vasopressin (AVP))

A hormon meghatározások közül a **legtöbbb törődést** igénylő paraméterek

ACTH

PTH

Renin aktivitás

ACE

Kémiai paraméterek közül:

ammónia

szabad zsírsavak

laktát

aceton

A leggyakoribb preanalitikai hiba:

Hemolízis

Okai

- Nem megfelelő mennyiségű térfogat kerül a speciális csövekbe (EDTA, citrát, heparin, lithium, oxalát)!!!
- Hematomás a vérvételi hely
- A vérvételi csövek túlzott mértékű rázása

Hormon meghatározások során használt csövek

Legtöbb hormont éhgyomorra (10-12 h éhezést követően) történő vérvételből származó **szérumból** határozzuk meg

De

ACTH, PTH **EDTA-s és hűtött csövek** (EDTA stabilizálja a peptid hormonokat)

-Nem megfelelő mennyiségű térfogat kerül a speciális csövekbe

EDTA, citrát, heparin, lithium, oxalát!!!, de speciális hormonok esetében egyébstabilizáló anyagok pl. aprotinin is szükséges lehet (plasma catecholaminok, ghrelin stb.)

A szállítás során fellépő hibák

Nem megfelelő **hőmérsékleten** történő mintaszállítás

- hűtött minta - fagyasztott minta (NEM UGYANAZ)
- melegen tartott minta (pl. 37 C kell a crioglobulinok meghatározáshoz)
- a nagy hőmérsékleti különbségű helyek között kerülni kell a hirtelen szállítást

Nem megfelelő **Szállítási eszközök**

- számos esetben szükséges a fénytől történő védelem (bilirubin, vizelet catecholamin, 5-HIAA meghatározáshoz)
- speciális gyűjtő eszközök pl. nyálgyűjtés

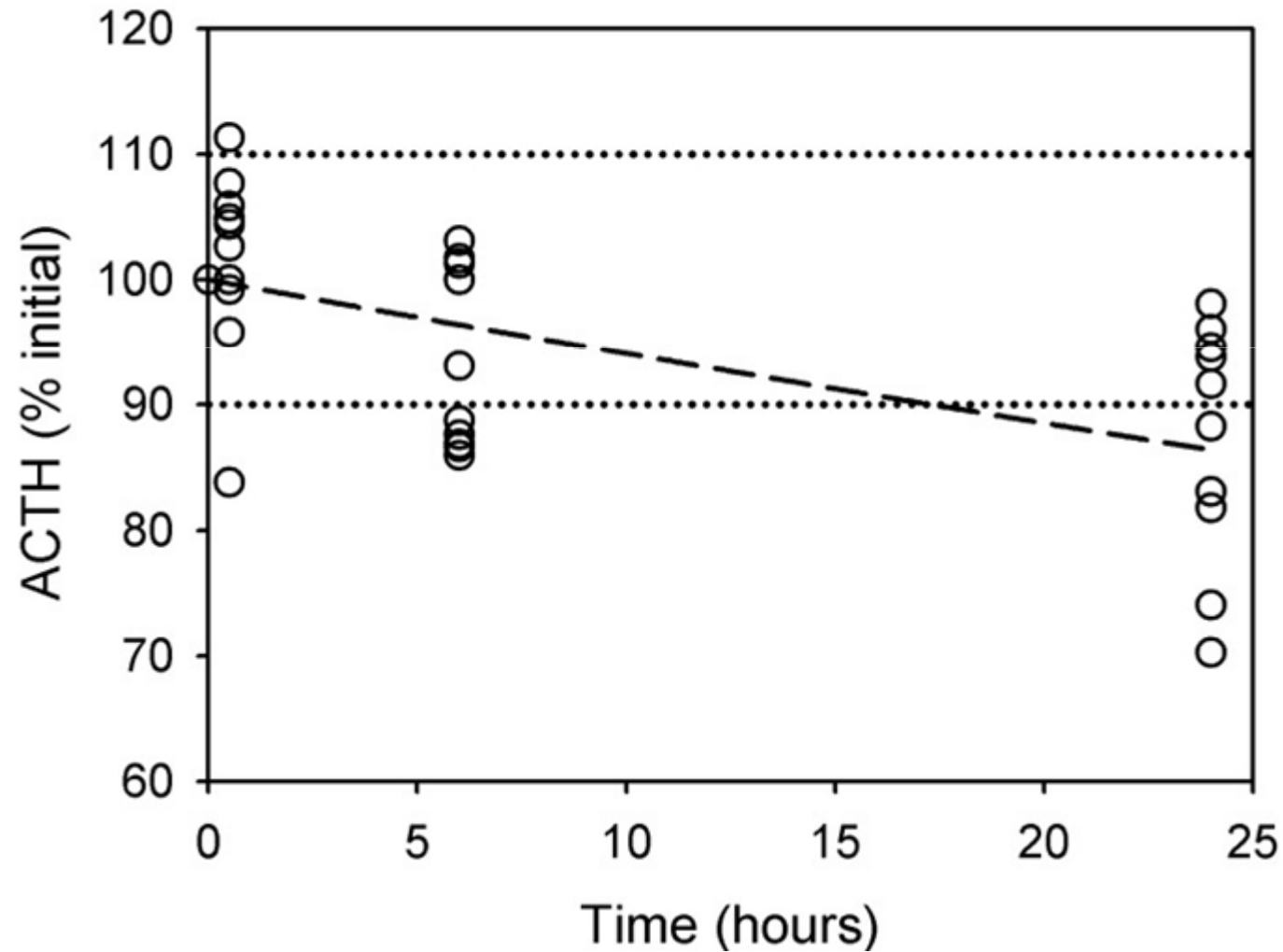
Helyes mintavételezés: vizelet

- Egyszeri, de hormonok esetében a **24 h gyűjtött vizelet** javasolt
 - Kooperáció elengedhetetlen
 - Betegtájékoztató adása szükséges
- **Adalék, stabilizálás:** sósav catecholaminok esetében, glycerol gonadotrophinok esetén stabilizálja a fagyasztott mintákban
- **Speciális gyűjtő** konténeres szükséges lehet: pl. sávval mosott edények réz meghatározáshoz

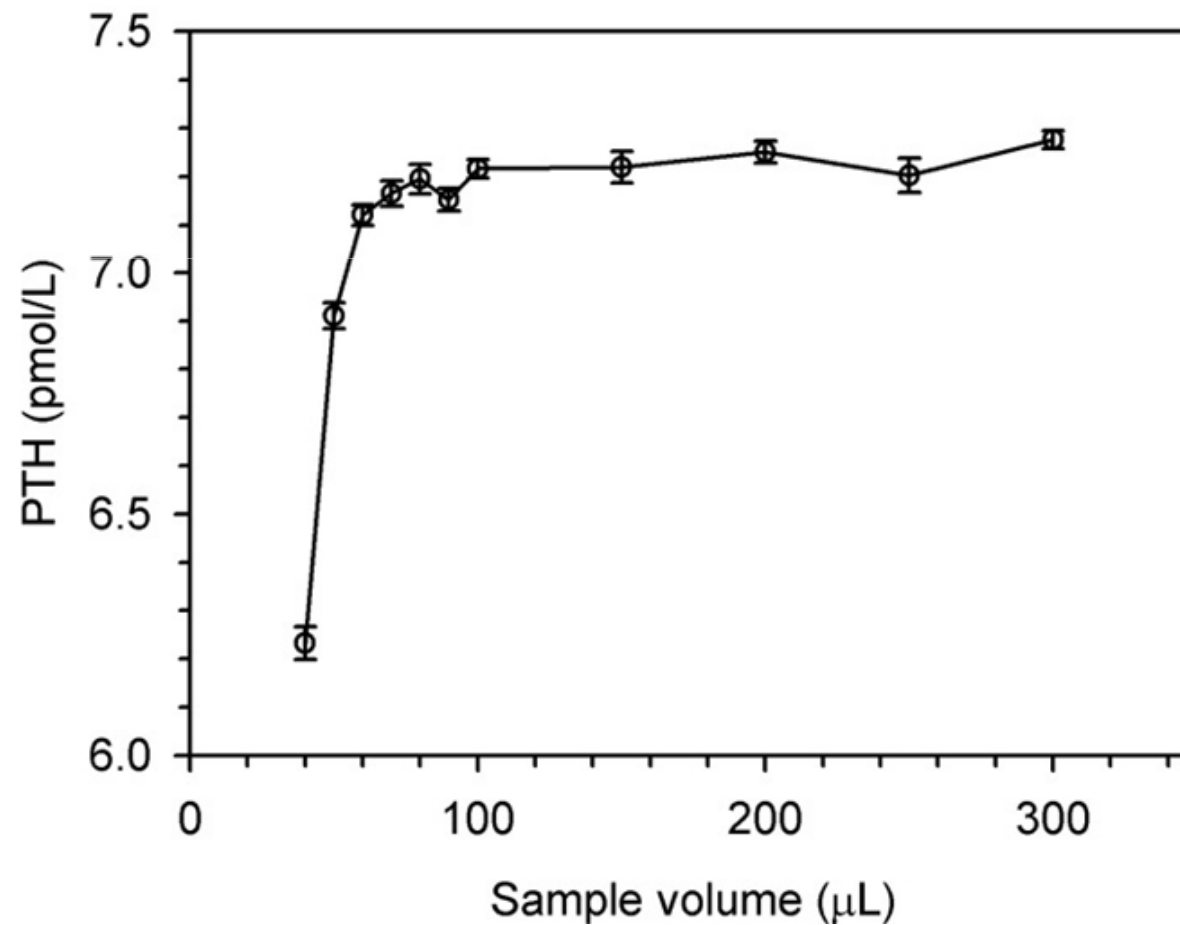
Helyes mintakezelés: laboratóriumba érkeztetés és feldolgozás

- Plasma szeparálás:
 - glükóz < 4h
 - ACTH<18 h, 4 C fokon történő tárolás esetén is, szobahőn < 8 h
- Centrifugálás: sejt pellettel történő kontaminálást kerülni kell. Pl. catecholaminok esetén trombocitákkal történő kontamináció emelkedett értékkel jár
- Javasolt a 1100–1500×g 10 percig
- Aliqouto-k készítése: hormon mérések esetében elengedhetetlen (térfogatra figyelni)
- Renin: stabilabb szobahőn mint 0 C fokon, mert gyors fagyasztás esetén a prorenin aktiválódik
- Vizelet FSH és LH stabilabb 4 fokon mint -20 C fokon feltehetően az urea miatt
- A többszöri felolvasztás visszafagyasztást kerülni kell.
- Felolvasztás után, keverés, és újra centrifugálás javasolt (fagyasztás során koncentráció gradiens alakulhat ki, illetve plasma minták fibrin kiválás fordulhat elő)

ACTH concentrations in EDTA whole blood from ten subjects after incubation for 0.5, 6 or 24 hours at 24 °C.



PTH concentrations (mean \pm sem of 10 replicates) as a function of the volume of pooled EDTA plasma presented to the Roche Elecsys 2010 analyser in 0.5 mL conical-bottomed microfuge tubes.



Minta visszautasítás

Szabályozást igényel!!!

A laboratórium felelőssége a hozzá eljuttatott mintákból történő szabályozott, kontrollált mérés és leletkiadás, ezért vonható felelősségre

Elkerülhetetlen az alábbi esetekben:

- alvadékos minta
- hemolizált
- a csövön található jelzéshez képest kevesebb vagy több térfogat
- jelzések hiánya, nem egyértelmű
- nem megfelelő csőtípusban küldött minta
- archivált mintákból történő mérés (a tárolás során, és a többszöri felolvasztáskor is számos hormon esetében károsan módosul a mért koncentráció, renin aktivitás...)

