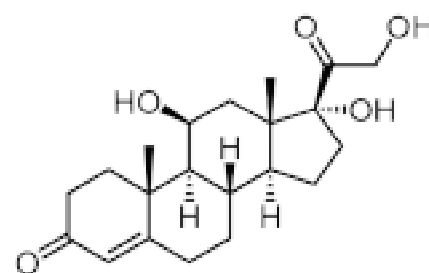


Exempla trahunt - příklady táhnou

Mgr. Sylva Brychtová, Nemocnice Nové Město na Moravě, OKLT -
Oddělení klinické biochemie, přednosta: prim. MUDr. Vlasta Musilová



Volný kortisol

- diagnostický přínos a možnosti jeho stanovení

Úvod

Kortisol je hlavním glukokortikoidním hormonem vytvářeným v nadledvinové kůře. Syntéza a sekrece kortisolu nadledvinami je řízena negativní zpětnou vazbou osy hypotalamus-hypofýza-kůra nadledvin. Existuje výrazný cirkadiánní rytmus v činnosti osy. Maximum dosahuje v ranních hodinách, minimum v pozdních nočních hodinách.

Pro transport v krvi je 80-90 % kortisolu vázáno na CBG (corticosteroid binding globulin-transkortin) a 7-10 % na albumin. Tato vázaná forma je biologicky neaktivní. Pouze malé množství kortisolu 3-5 % cirkuluje v krvi nenavázáno a je volné pro reakci s receptory, které jsou obsaženy prakticky ve všech tkáních. Koncentrace transkortinu a s ní i plazmatická hladina celkového kortisolu se mění při některých stavech jako jsou těhotenství, hypo/hypertyreóza, léčba estrogeny, užívání hormonální antikoncepce,...

Volný kortisol lze stanovit v různých biologických materiálech: séru, heparini-

zované plazmě, moči a ve slinách. Stanovení volného plazmatického kortisolu se rutinně neprovádí z důvodů technické náročnosti. Lze jej nahradit stanovením kortisolu ve slinách, kde se přes žlázoový epitel profiltrovává kortisol jen ve volném stavu. Hladina volného kortisolu ve slinách koreluje s hladinami volného kortisolu v krvi a je nezávislá na slinotoku. Zvýšené koncentrace naměřené v pozdních nočních hodinách jsou nejčasnějším a nejcitlivějším ukazatelem pro dg. Cushingova syndromu.

Malá část kortisolu (asi 1 %) se vylučuje nezměněná močí. Koncentrace kortisolu v moči je úměrná volné frakci hormonu v plazmě a dovede dobře odlišit stavy, kde je vysoký celkový plazmatický kortisol s vazbou na transkortin. Je vhodné jej stanovit ve sběru moče za 24 hod. V tomto případě je odbourán vliv cirkadiánního rytmu kortisolu. U 10-15 % pacientů s dg. Cushingův syndrom může být však nalezena hodnota v mezích normy při opakovaném stanovení volného kortisolu v moči. Nálezem normálové hodnoty z jediného

sběru tedy nelze vyloučit Cushingův syndrom. Jako optimum jsou doporučeny tři odběry (sběry). Sběr ale vyžaduje náležitou instruktáž k zajištění kompletnosti vzorku. Nelze jej provádět v nemocných s renální insuficiencí (glomerulární filtrace < 0,5 ml/s) a má další úskalí provázející stanovení analytů v moči (stav hydratace organismu,...). Mimo to, zvýšené hodnoty volného močového kortisolu mohou být také pozorovány u pacientů s tzv. pseudo-Cushingovskými stavy, jako jsou depresivní stavy, chronický alkoholismus, manické fáze maniodepresivní psychózy,...

Hladiny plazmatického kortisolu jsou diagnosticky významné pro hypokortisolismus. Volný močový kortisol stejně jako kortisol ve slinách je diagnosticky významný pro hyperkortisolismus.

Naše zkušenosti

Na našem oddělení provádíme stanovení celkového kortisolu v séru, volného kortisolu v moči i ve slinách. Stanovení ze všech těchto materiálů je prováděno sou-

časně metodou Elecsys Cortisol. Měřicí rozsah 0,5 - 1750 nmol/l je dostatečný pro měření kortisolu ve slinách, jehož koncentrace se pohybuje na dolní hranici měřicího rozsahu i pro měření kortisolu ve sbírané moči. Pro měření kortisolu ve sbírané moči je nutná předúprava vzorku. Volný kortisol v moči extrahujeme pomocí dichlormetanu, práce je poměrně časově náročná.

Kontrolu metody provádíme pomocí kontrolního materiálu PreciControl Universal firmy Roche i v případě měření ve slinách. Pro kontrolu kortisolu v moči používáme kontrolní materiál firmy Bio-Rad Lyphochek Quantitative Urine Kontrol.

Stanovení kortisolu ve slinách

● Odběr vzorku

Odběr vzorku pro stanovení kortisolu ve slinách má mnoho výhod. Je neinvazivní, dobře snášen i u dětských pacientů a lze jej jednoduše provést i v domácím prostředí. Pro odběr vzorku jsou používány speciální odběrové zkumavky Sallivette firmy Sarstedt, které mají vložený sterilní tampón pro sběr slin. Tampón je vložen ve druhé vnitřní zkumavce, což umožňuje snadnou separaci slin z tampónu centrifugací. Provádí se během dne ještě před vyčištěním zubů, ne však dříve než 30 min. po jídle nebo pití.

Odběrový tampón lze použít dvěma způsoby:

1/ tampón žvýkat po dobu 1-2 min.

2/ tampón vložit pod jazyk - nechat jej o něco déle než při žvýkání.

Během doby, kdy je tampón v ústech nepolykat sliny.

Zkumavky jsou po sběru centrifugovány při 3500 ot/min. po dobu 3 minut. Odstředěné sliny jsou uchovávány v originální zkumavce (tampón s druhou vnitřní zkumavkou je vyjmut a vyhozen) při -20 °C. Vzorek je stabilní při pokojové teplotě týden, a proto není problém provést odběr doma.

● Metoda

Stanovení provádíme na analyzátoru Elecsys 2010. Metoda je kompetitivní elektrochemiluminiscence ECLIA s použitím polyklonálních ovčích protilátek. Potřebný objem vzorku pro analýzu je 20 µl. Z našich zkušeností s odběrem není problém výše popsanými způsoby běžně získat 2-4 ml slin.

Před analýzou je vzorek rozmražen, důkladně protřepán, centrifugován při 3500 ot/min. po dobu 3 minut a bez dalších úprav vložen v původní originální zkumavce s BC do analyzátoru k analýze.

● Interpretace

Při laboratorním vyšetření a klinické interpretaci hodnot je nutné znát dobu odběru biologického materiálu.

Pro hodnocení používáme firemní referenční rozmezí: pro ranní odběr (8-10 hod.): 1,9 - 19,1 nmol/l, odpolední odběr (14,30-15,30): 2,05 - 11,9 nmol/l, nově je

udáváno i rozmezí pro pozdní noční odběr (23 hod.): menší než 8,9 nmol/l.

Na našem oddělení jsme dosud vyšetřili 50 vzorků převážně obézních pacientů a pacientů s dg. tyreoiditis, hypofunkce štítné žlázy a pacientek užívajících hormonální antikoncepci. Pacienta s dg. Cushingův syndrom jsme z našeho poměrně malého souboru nedidiagnostikovali.

Protože nebyly k dispozici hodnoty pro pozdní noční odběr, měření kortisolu bylo našimi lékaři používáno jako jednorázové bez využití dynamických testů. Ověřili jsme si, že touto metodou lze jednoduše vyloučit hyperkortizolismus především u pacientek s hormonální antikoncepcí a obézních pacientů, kteří mají vysoké hladiny sérového kortisolu.

Závěr

V současnosti bylo prokázáno, že samostatné stanovení kortisolu ve slinách v nočních hodinách je v dg. Cushingova sy **nadřazeno** stanovení volného kortisolu v moči.

Stanovení kortisolu ve slinách v nočních hodinách je zvl. přínosné pro děti, psychiatrické pacienty a osoby, u kterých rozličné stresové faktory mohou ovlivnit kůru nadledvin a způsobit nárůst koncentrací adrenálních steroidů a u stavů, kdy je potřebné vyloučit hyperkortizolismus způsobený zvýšenou hladinou transkortinu.

Z našich zkušeností jsme si ověřili, že stanovení kortisolu ze slin má jednoduchou techniku odběru i způsob použití pro analýzu (vzorek bez předúpravy).

Literatura:

- 1) Zima T.: *Laboratorní diagnostika*, Galén 2002, 166, 180-183
- 2) Racek J.: *Klinická biochemie*, Galén 2006, 152-153
- 3) Vogeser M. et al.: *Measurement of late-night salivary cortisol with an automated immunoassay system*, *Clin Chem Lab Med* 2006, 44(12), 1441-1445
- 4) Hershel R., Findling J.W.: *A Physiologic Approach to Diagnosis of the Cushing syndrome*, *Ann Internal Med* 2003, 138, 980-991
- 5) van Aken M.O. et al.: *Automated Measurement of Salivary Cortisol*, *Clinical Chemistry* 2003, 49, 1408-1409

