Stanovení hormonů

Miroslava Beňovská

Hormony

- Látky specificky reagující na metabol. děje v organismu
- Většinou tvořeny v endokrinních žlázách
- Krví přenášejí informace do buněk cílových orgánů po vazbě na specifické receptory (nebo bez spec. receptorů)
- V krvi hormony často vázány na specifické transportní bílkoviny
- Biologicky účinné jen formy volné

Podle chemického složení rozlišujeme hormony

- **bílkovinné a peptidové** (*hormony pankreatu, hypotalamu, hypofýzy, příštítné žlázy*)
- **steroidní** (*hormony pohlavních žláz a kůry nadledvin*)
- **odvozené od aminokyseliny tyrosinu** (*hormony štítné žlázy a dřeně nadledvin*)
- **odvozené od mastných kyselin** (*prostaglandiny*)

METODY STANOVENÍ

- **Chromatografické metody** (HPLC, GC, LC/MS/MS, ID-GC/MS, ID-LC/MS/MS, ID-HPLC/MS) – i metody referenční

  Často nutná úprava vzorku (derivatizace, extrakce)

- **Imunoanalytické metody**

  s luminometrickou detekcí (LIA, ILMA, CMIA, ECLIA)

  s fluorometrickou detekcí (MEIA, FPIA)

  s fotometrickou detekcí (ELISA, EMIT)

  s detekcí radioaktivity (RIA, IRMA)

- Multiplexové metody

MULTIPLEXOVÉ METODY

Princip xMAP technologie (microarraye partical):

- 100 druhů mikrokuliček (magnetické) rozlišených kombinací dvou fluorescenčních barev
- Na každém druhu kuličky molekula umožňující specifickou vazbu jednoho analytu
- Na kuličku je navázán analyt a druhá protilátka Kuličky protékají přístrojem (**Luminex 100 IS, Luminex Corp.**) - **princip flow cytometrie**
- Měří se fluorescence vzniklé po excitaci dvěma lasery – z nich se vyhodnotí – druh a množství analytu

MULTIPLEXOVÉ METODY- vlastnosti

- xMAP technologie poskytuje možnost simultanního měření až 100 analytů v jedné jamce mikrotitrační destičky
- Analýzu je možné provádět pro předem připravené panely vyšetření – př. cytokiny
- Potřeba velmi malého objemu
- Nižší cena za vyšetření
- Dlouhá inkubace a nutnost práce ve větších sériích
- Metodika je vhodná pro měření imunochemických metod, mukleových kyselin, enzymů

Biočipová array technologie:

- **Imunoanalýza založená na simultánní multianalýze**
- **Na jednom biočipu se analyzují celé panely příbuzných testů**
- **Principem stanovení je ELISA (přístroj Evidence, Randox)**

HORMONY ŠTÍTNÉ ŽLÁZY

TYROXIN (CELKOVÝ A VOLNÝ, T4 A FT4)

- ***Speciální preanalytické požadavky:*** separaci séra nebo plazmy provést do 6h po odběru
- ***Referenční hodnoty*****:** 60-150 nmol/l (T4) a 9,1-23,8 pmol/l (FT4)

TRIJODTYRONIN (CELKOVÝ A VOLNÝ, T3 A FT3)

- ***Speciální preanalytické požadavky:*** separaci séra nebo plazmy provést do 6h po odběru
- ***Referenční hodnoty*****:** 1,21-2,29 nmol/l (T3) a 2,2-5,3 pmol/l(FT3)

Další látky, které nejsou hormony, ale týkají se metabolismu štítné žlázy

TYREOGLOBULIN (THYROGLOBULIN, THG)

- ***Referenční hodnoty*:** do 55 ug/l
- glykoprotein obsahující jod, prekursor tyroxinu a trijodtyroninu, tvořený dvěma podjednotkami

PROTILÁTKY PROTI TYREOIDÁLNÍ PEROXIDÁZE (ANTI-TPO, TPOAB)

- ***Referenční hodnoty*:** do 50 kU/l (U/ml)
- mohou se zúčastnit na poškození tyreocytů

PROTILÁTKY PROTI TYREOGLOBULINU (ANTI-TG, TGAB)

- ***Referenční hodnoty*:** do 150 kU/l (U/ml)

PROTILÁTKY PROTI RECEPTORŮM TSH (TRAK)

- ***Referenční hodnoty*:** negativní <1,0 U/l (Brahms)<1,5 U/l (Roche)

„šedá zóna“	1,0-1,5 U/l	1,5-1,75 U/l
pozitivní	>1,5 U/l	>1,75 U/l

POHLAVNÍ HORMONY

- Androgeny *(testosteron)*
- Estrogeny *(estradiol, estron, estriol)*
- Gestagen*y (progesteron)*

Sekrece pohlavních hormonů řízena hypofyzárními gonadotropiny; luteinisačním hormonem (LH) a hormonem stimulujícím folikuly (FSH)

Hlavním transportním proteinem pohlavních hormonů je *sexuální hormony vázající globulin (SHBG)*

POHLAVNÍ HORMONY

TESTOSTERON

- ***Referenční hodnoty*:** ženy 0,2-2,9 nmol/l,
  muži 9,9-27,8 nmol/l
- v krvi vázaný na bílkoviny, část je volná
- změny koncentrace vazebných bílkovin mohou ovlivnit koncentraci, v praxi se používá *index volných androgenů (FAI)*, vypočítaný jako poměr testosteronu celkového a SHBG
-

ESTRADIOL (17-B-ESTRADIOL)

- ***Referenční hodnoty*:** ženy: folikulární fáze 40-606 pmol/l, ovulační fáze 536-1930 pmol/l, luteální fáze 121-718 pmol/l, posmenopauza <136 pmol/l,
  muži: <121 pmol/l
- hlavní ženský steroidní pohlavní hormon
- sledování indukce ovulace a ovariální hyperstimulace, anomálií menstruačního cyklu

POHLAVNÍ HORMONY

PROGESTERON (PRG)

- ***Referenční hodnoty*:** ženy: folikulární fáze 0,5-4,4 nmol/l, ovulační fáze 14,1-89,1 nmol/l, luteální fáze 10,6-81,3 nmol/l, posmenopauza <2,3 nmol/l

  muži: 0,9-3,9 nmol/l
- u žen tvořen žlutým tělískem ovarií , v menší míře kůrou nadledvin.
- v šestém týdnu hlavním místem tvorby stává placenta.
- většina progesteronu je v krvi vázána na bílkoviny (albumin, aj.).
- prudký nárůst koncentrace při ovulaci

PLACENTÁRNÍ HORMONY

Lidský choriový gonadotropin (lidský choriogonadotropin, hCG)

- stanovení je také součástí screeningu vrozených vývojových vad
- ***Referenční hodnoty*:** do 5 U/l
- k potvrzení gravidity a k jejímu sledování, zvýšené hodnoty jsou u nádorů vaječníků, varlat, aj.
- stanovení celkový beta-hCG (intaktní hormon+volná podjednotka beta), intaktní hCG(pouze intaktní hormon), volná beta-podjednotka

HORMONY PANKREATU

INZULIN

- ***Referenční hodnoty*:** 6-27 mU/l
- stanovení má malou diagnostickou hodnotu
- ruší exogenní inzulin a protilátky proti inzulinu

GLUKAGON

- polypeptid složený z 29 aminokyselin, stimuluje glykogenolýzu a glukoneogenézu, zvyšuje glykémii

C-PEPTID

- ***Referenční hodnoty*:** 0,78-1,89 ug/l
- C-peptid není hormon, je to jednoduchý peptid vzniklý rozštěpením proinzulinu
- ukazatel endogenní syntézy inzulinu
- neinterferuje exogenní inzulin

HORMONY HYPOFÝZY A HYPOTALAMU

TYREOTROPIN (TYREOTROPNÍ HORMON, TSH)

- ***Speciální preanalytické požadavky****:* pokud je to možné odběr ráno, nalačno, separaci séra nebo plazmy provést do 4h po odběru
- ***Referenční hodnoty*****:** 0,2-4,5 mU/l

ADRENOKORTIKOTROPIN (KORTIKOTROPIN, ACTH)

- ***Speciální preanalytické požadavky:*** transport v ledové lázni, ***Referenční hodnoty*****:** do 46 ng/l (pg/ml)
- odhalování příčiny nadměrné produkce kortizolu (Cushingův syndrom),nebo nedostatečné sekrece (Addisonova nemoc)
- stimulační a inhibiční testy syntézy ACTH (např.dexametazonový test)

HORMONY HYPOFÝZY A HYPOTALAMU

FOLIKULOSTIMULAČNÍ HORMON (FOLITROPIN, FSH)

- ***Referenční hodnoty*:** ženy: folikulární fáze 2,5-10,2 U/l, ovulační fáze 3,4-33,4 U/l, luteální fáze 1,5-9,1 U/l, postmenopauza 23,0-116,3 U/l

  muži: 1,4-18,1 U/l
- závislost na období menstruačního cyklu s maximem v ovulaci

LUTEINIZAČNÍ HORMON (LUTROPIN,LH)

- ***Referenční hodnoty*:** ženy: folikulární fáze 1,9-12,5 U/l, ovulační fáze 8,7-76,3 U/l, luteální fáze 0,5-16,9 U/l, postmenopauza 15,9-54,0 U/l

  muži: 1,5-9,3 U/l

HORMONY HYPOFÝZY A HYPOTALAMU

PROLAKTIN (PRL)

- ***Speciální preanalytické požadavky:*** doporučuje se odběr 3h po probuzení (optimálně mezi 8 a 10h)
- ***Referenční hodnoty*****:** ženy: 59-619 mU/l, postmenopauza 38-430 mU/l, muži: 44-375 mU/l
- základní diagnostická metoda pro diagnostiku adenomu hypofýzy (prolaktinom)
- zvýšené hodnoty jsou přítomny v graviditě a při laktaci

RŮSTOVÝ HORMON (SOMATOTROPIN, STH, TAKÉ GH, GROWTH HORMON)

- ***Referenční hodnoty*****:** 0,16-13,00 mU/l

HORMONY KŮRY NADLEDVIN

KORTIZOL

- ***Speciální preanalytické požadavky:*** kolísáni koncentrace kortizolu během dne - nejčastěji se odběr provádí ráno mezi 7-9h a večer mezi 16-20h
- ***Referenční hodnoty*****:** sérum - ráno 101-536 nmol/l,
  večer 79-478 nmol/l
  moč 12-486 nmol/24h
- většina kortizolu v krvi je vázána na transkortin, dále na SHBG a albumin
- 10 % je ve volné formě

DEHYDROEPIANDROSTERON SULFÁT (DHEAS)

- ***Speciální preanalytické požadavky****:* oddělit elementy do 30 min po odběru
- ***Referenční hodnoty***: jsou závislé na použité metodě, věku, pohlaví
- vzniká téměř výlučně v nadledvinách, u mužů částečně i ve varlatech, u žen v ovariích.
- zvýšené koncentrace u hyperplazie a tumorů nadledvin

HORMONY DŘENĚ NADLEDVIN

adrenalin, noradrenalin *(katecholaminy)*

- pro stanovení v plazmě nebo moči se používá HPLC s elektrochemickou detekcí po vyextrahování z bílkovinné matrice
- stanovují se také O-methyl metabolity nazývané *metanefriny.*
- Katecholaminy a metanefriny se stanovují především pro diagnostiku nádoru chromafinních buněk feochromocytomu

PARATHORMON

- ***Speciální preanalytické požadavky****:* transportovat při teplotě tajícího ledu, centrifugovat co nejdříve v chlazené centrifuze a oddělit sérum nebo plazmu
- ***Referenční hodnoty*****:** 1,5-7,6 pmol/l
- stanovení slouží pro laboratorní diagnostiku primární hyperparatyreózy