کتاب هورمون‌شناسی عملی

هورمون‌های کورتکس آدرنال
(Adrenal Cortex Hormones)

دکتر رضا محمدی
DCLS, PhD

قسمت اول

جنبه‌های مشترک اندازه‌گیری هورمون‌های استروئیدی

روش‌های معمول اندازه‌گیری

- ایمونواسی‌های رقابتی
- با استفاده از نشانگرهای مختلف

جنبه‌های مشترک اندازه‌گیری هورمون‌های استروئیدی

- تشابه ساختمانی زیاد
- وجود اشکال استری
- اتصال به پروتئین‌ها در گردش خون

جنبه‌های مشترک اندازه‌گیری هورمون‌های استروئیدی

- تشابه ساختمانی زیاد
- وجود اشکال استری
- اتصال به پروتئین‌ها در گردش خون

کالیبراسیون روش

- استفاده از کالیبراتورهای ساختگی که به طریق وزن‌سنجی صحه‌گذاری شده‌اند

نمونه

- سرم، پلاسما، ادرار و بزاق
- ترشح ضربانی و ریتمیک

قسمت دوم

کورتیزول

(Cortisol)

مرحله قبل آزمایش: تغییرات بیولوژیکی

- ترشح ضربانی
- تغییرات شبانه‌روزی

بیشترین میزان در صبح (نمونه‌گیری ۷ تا ۱۰ صبح)

کمترین میزان در اواخر بعدازظهر

مرحله قبل آزمایش: نمونه

- سرم یا پلاسما (هپارینه)

  یک هفته در یخچال و ۳ ماه در $-۲۰^{o}C$

- ادرار

  می‌توان از اسید بوریک (۱۰ گرم) استفاده کرد

  نگهداری در یخچال

  نگهداری طولانی در $-۲۰^{o}C$

- بزاق

  یک هفته در یخچال و ۴ ماه در $-۲۰^{o}C$

مرحله آزمایش

- ایمونواسی رقابتی غیرایزوتوپی آنزیمی یا کمی‌لومینسنت

مرحله بعد آزمایش: واحد گزارش

- µg/dL یا nmol/L
- تبدیل واحدها با استفاده از فرمول زیر

$$Cortisol_{(nmol/L)} = Cortisol_{(\mu g/dL)} \times 27.6$$

مرحله بعد آزمایش: دامنه مرجع

Stage	Age/ Time of day	Concentration (µg/dL)
Cord blood	-	5 – 17
Newborn	1 – 7 days	2 – 11
Children	1 – 16 years	3 – 21
Adults	8 AM	5 – 23
	4 PM	3 – 16
	8 PM	< 50% of 8 AM

مرحله بعد آزمایش: دامنه مرجع

- صبح : ۵ – ۲۵ µg/dL
- اواخر بعدازظهر و شب : نصف میزان صبح و اغلب کمتر از ۵ µg/dL

قسمت دوم

هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک

(Adrenocorticotropic Hormone; ACTH)

مرحله قبل آزمایش: نمونه

- در مقایسه با کورتیزول، نوسانات بیشتر در طول روز

مرحله آزمایش: نمونه

- جمع‌آوری در لوله سردشده حاوی EDTA
- جداسازی در سانتریفوژ یخچال‌دار
- نگهداری در ۲۰°C- تا یک ماه

مرحله آزمایش

- ایمونواسی غیررقابتی دو-جایگاهی با استفاده از نشانگرهای غیرایزوتوپی

مرحله بعد آزمایش: واحد گزارش

- pg/mL یا pmol/L
- تبدیل واحدها با استفاده از فرمول زیر

$$ACTH_{(pmol/L)} = ACTH_{(pg/mL)} \times 27.6$$

مرحله بعد آزمایش: دامنه مرجع

Stage	Concentration (pg/mL)
Cord Blood	50 – 570
Newborn	10 – 185
Adult (8-9 AM)	Up to 120

قسمت سوم

۱۷–هیدروکسی پروژسترون

(17-OH Progesterone)

کاربرد بالینی اندازه گیری

- غربالگری و تشخیص غربالگری CAH
- پایش درمان کودکان مبتلا به CAH
- ارزیابی هیرسوتیسم یا نازایی در خانم ها

مرحله قبل آزمایش: نمونه

- سرم بهترین نمونه
- امکان استفاده از پلاسمای حاوی EDTA
- خون پاشنه پا در نوزادان
- مایع آمنیوتیک
- بزاق

مرحله قبل آزمایش: نمونه

- نگهداری به مدت یک هفته در یخچال و یک ماه در ۲۰- ^{o}C

مرحله آزمایش

- ایمونواسی رقابتی ایزوتوپی یا غیرایزوتوپی

تداخل کورتیکوستروئیدها بخص در نوزادان تا ۳ ماه

استفاده از روش استخراج

- تکنک LC-MS/MS

حذف تداخلات

مرحله بعد آزمایش: واحد گزارش

- ng/dL یا nmol/L
- تبدیل واحدها با استفاده از فرمول زیر

$$\text{17-OH Progesterone}_{(nmol/L)} = \text{17-OH Progesterone}_{(ng/dL)} \times 0.03$$

مرحله بعد آزمایش: دامنه مرجع

- وابسته به سن، جنس، مرحله بلوغ جنسی و روش

Stage	Concentration (ng/dL)
Cord blood	900 – 5000
Newborn	25 – 568
Children	7 – 77
Adults	3 - 90
Male	27 – 199
Female	15 - 290

مرحله بعد آزمایش: تغییرات بیولوژیکی

- تغییرات بیولوژیکی درون-فردی برابر ۱۹,۶٪
- تغییرات بیولوژیکی بین-فردی برابر ۵۰,۴٪
- شاخص فردیت برابر ۰,۳۹
- استفاده از RCV

قسمت چهارم

دهیدرواپی‌آندروسترون سولفات

(Dehydroepiandrosterone)

کاربرد بالینی اندازه گیری

- ارزیابی میزان تولید آندروژن توسط غدد آدرنال
- ارزیابی هیپرپلازی یا تومور آدرنال
- ارزیابی تأخیر در بلوغ
- ارزیابی هیرسوتیسم یا نازایی در خانم ها

مرحله قبل آزمایش: آماده سازی بیمار

- فاقد تغییرات شبانه‌روزی
- کاهش کاذب در صورت تجویز گلوکوکورتیکوئید

مرحله قبل آزمایش: نمونه

- سرم بهترین نمونه
- امکان استفاده از پلاسمای حاوی EDTA

مرحله قبل آزمایش: نمونه

- نگهداری به مدت دو هفته در یخچال و بیش از یک سال در ۲۰- ºC

مرحله آزمایش

- ایمونواسی رقابتی غیرایزوتوپی
- تداخل قابل توجه ناشی از DHEA ، آندروستن دیون و آندروسترون

مرحله بعد آزمایش: واحد گزارش

- µg/dL یا µmol/L
- تبدیل واحدها با استفاده از فرمول زیر

$$DHEA\text{-}S_{(\mu mol/L)} = DHEA\text{-}S_{(\mu g/dL)} \times 0.027$$

مرحله بعد آزمایش: دامنه مرجع

- وابسته به سن، جنس، مرحله بلوغ جنسی و روش

Stage	Age	Female (µg/dL)	Male (µg/dL)
Newborn	1 – 5 days	10- 248	12 – 254
Children	1 month – 5 years	5 – 55	1 – 41
	6 – 9 years	2.5 – 140	2.5 – 145
Puberty	Tanner I	5 – 125	5 – 265
	Tanner II	15 – 150	15 – 380
	Tanner III	20 – 535	60 – 505
	Tanner IV	35 – 485	65 – 560
	Tanner V	75 - 530	165 – 500
Adults	18 – 30 years	45 – 380	125 – 619
	31 – 50 years	12 – 379	5 – 532
	51 – 60 years	-	20 - 413
	61 – 83 years	-	10 - 285

مرحله بعد آزمایش: تغییرات بیولوژیکی

- تغییرات بیولوژیکی درون-فردی برابر ۶,۴٪
- تغییرات بیولوژیکی بین-فردی برابر ۲۰,۱٪
- شاخص فردیت برابر ۰,۲۱
- استفاده از RCV

قسمت پنجم

آندروستن‌دیون

(Androstendione)

کاربرد بالینی اندازه گیری

- ارزیابی هیپرپلازی یا تومور آدرنال
- ارزیابی بیماری تخمدان پلی کیستیک

مرحله قبل آزمایش: تغییرات بیولوژیکی

- دارای ریتم شبانه‌روزی (در صبح بیشتر)
- تغییرات طی سیکل ماهیانه (در وسط دوره بیشتر)
- افزایش در دوران بارداری

مرحله قبل آزمایش: نمونه

- سرم بهترین نمونه
- امکان استفاده از پلاسمای حاوی EDTA و هپارین

مرحله قبل آزمایش: نمونه

- نگهداری به مدت یک هفته در یخچال و دو ماه در ۲۰- ^{o}C

مرحله آزمایش

- ایمونواسی ناهمگن، رقابتی غیرایزوتوپی آنزیمی یا کمی‌لومینسنت

مرحله بعد آزمایش: واحد گزارش

- ng/dL یا nmol/L
- تبدیل واحدها با استفاده از فرمول زیر

$$\text{Androstenedione}_{(nmol/L)} = \text{Androstenedione}_{(ng/dL)} \times 0.0349$$

مرحله بعد آزمایش: دامنه مرجع

Condition	Concentration (ng/dL)
Prepubertal	< 5
Male	75 – 205
Female	85 - 275

قسمت دوم

متابولیت‌های ادراری

(Urine Metabolites)

آنالیت‌های دیگر

- ۱۷-هیدروکسی کورتیکوستروئیدها (17-OHCS)
- ۱۷-کتوژنیک استروئیدها (17-KGS)

۱۷-هیدروکسی کورتیکوستروئیدها (17-OHCS)

- اندازه‌گیری به روش Porter-Silber
- برای متابولیت‌هایی از کورتیزول که یک گروه کتو در موقعیت ۲۰ دارند

۱۷-کتوژنیک استروئیدها (17-KGS)

- تمامی متابولیت‌های کورتیزول که در موقعیت ۲۰ گروه کتو (کورتیزول و کورتیزون و مشتقات دی و تتراهیدرو آنها) دارند هیدروکسیل (کورتول و کورتولون) دارند
- روش اندازه‌گیری شامل سه مرحله است:

احیاء 17-KS موجود ادرار به 17-OHS

تبدیل 17-KGS به 17-KS

تعیین‌مقدار 17-KS به روش Porter-Silber

۱۷-کتوستروئیدها (17-KS)

- شامل آندروژن‌ها
- اندازه‌گیری به روش Zimmerman

تولید کمپلکس رنگی ارغوانی با m-Dinitrobenzene

کتاب هورمون‌شناسی عملی

مینرالوکورتیکوئیدها
(Mineralocorticoides)

دکتر رضا محمدی
DCLS, PhD

آزمایش‌های عملکرد مینرالوکورتیکوئیدها

- آلدوسترون
- رنین
- آنژیوتانسین II
- آنزیم مبدیل آنژیوتانسین

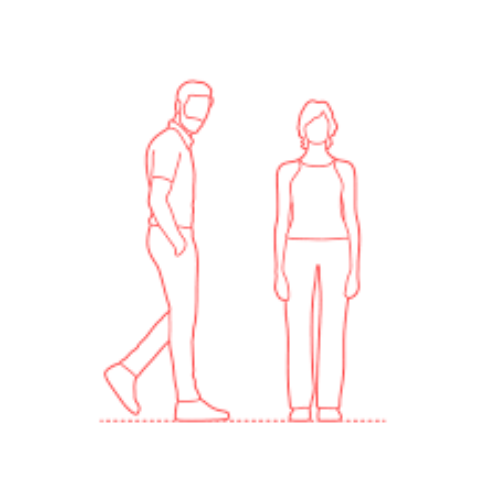
قسمت اول

آلدوسترون

(Aldoesterone)

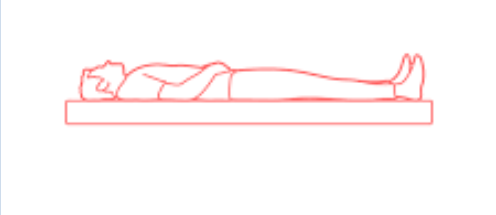
مرحله قبل آزمایش: شرایط بیمار

- توجه به وضعیت بدن



Upright: Standing

Upright: Seated



Supine

مرحله قبل آزمایش: شرایط بیمار

- توجه به مصرف دارو

مرحله قبل‌آزمایش: نوع نمونه

- استفاده از سرم یا پلاسما (هپارین یا EDTA)
  ترجیحاً پلاسمای حاوی EDTA
- جمع‌آوری ادرار ۲۴ ساعته با اسید بوریک

مرحله قبل آزمایش: نگهداری نمونه

- پایداری سرم برای ۳ روز در یخچال و حداقل یک ماه در ۲۰°C-
- نگهداری ادرار در ۲۰°C- بعد از جمع آوری

مرحله آزمایش: روش اندازه‌گیری

- ایمونواسی رقابتی
- با استفاده از نشانگرهای ایزوتوپی یا غیرایزوتوپی آنزیمی، فلورسنت یا کمی‌لومینسنت

مرحله آزمایش: چالش‌های اندازه‌گیری

- میزان بسیار پایین هورمون در گردش خون
- آزادسازی از پروتئین اتصالی
- واکنش متقاطع

مرحله بعدآزمایش: واحد گزارش

- ng/dL و یا nmol/L

$$\text{Aldoesterone}_{(nmol/L)} = \text{Aldoesterone}_{(ng/dL)} \times 0.0277$$

مرحله بعدآزمایش: دامنه مرجع

Stage	Age	Condition	Concentration (ng/dL)
Cord Blood			40 – 200
Newborn		Premature	19 – 141
	3 days	Full-terms	7 – 184
	1 week		5 – 175
Infants	1 – 12 months		5 – 90
	1 – 2 years		7 – 54
Children	2 – 10 years	Supine	3 – 35
		Upright	5 – 80
	10 – 15 years	Supine	2 – 22
		Upright	4 – 48
Adults		Supine	3 – 16
		Upright	7 - 30

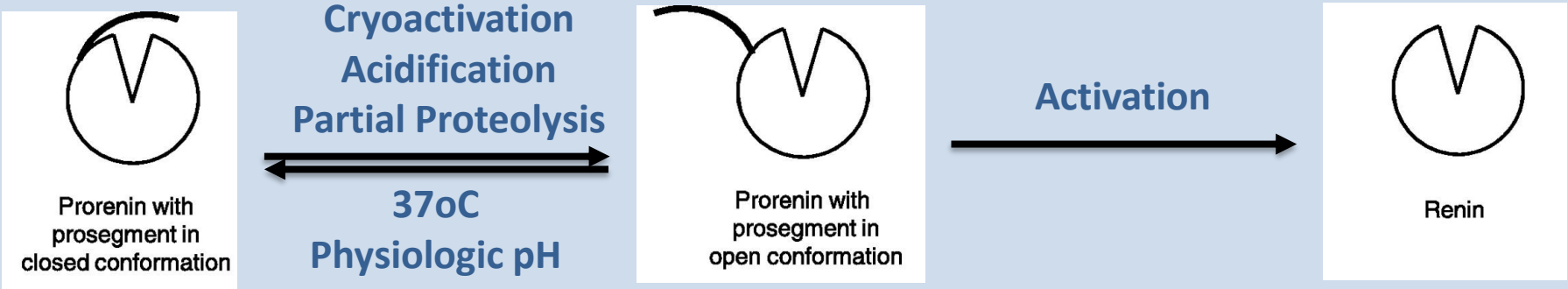
قسمت رنین

رنین

(Renin)

اشکال مختلف رنین موجود در گردش خون

- وجود سه شکل رنین، پرورنین با کونفورماسیون بسته (۹۸٪) و پرورنین با کونفورماسیون باز (۲٪)
- فعال سازی در 4°C یا کمتر در نمونه مایع و سریع تر در سرم



- غلظت پرورنین معمولاً ۱۰ و گاهی تا ۱۰۰ برابر غلظت رنین مثلاً در موارد آلدوسترونیسم اولیه

مرحله قبل آزمایش: شرایط بیمار

- توجه به وضعیت بدن: Upright یا Supine
- توجه به ساعت روز: ترجیحاً ۷ تا ۱۰ صبح
- ترجیحاً در وضعیت ناشتا
- توجه به مصرف دارو و سدیم

مرحله قبل آزمایش: نمونه

- استفاده از پلاسمای حاوی EDTA
- بعد از جداسازی پلاسما در حرارت اتاق، بلافاصله نگهداری در $-20^{o}C$

مرحله قبل آزمایش: نگهداری نمونه

- پایداری برای ۶ ساعت در حرارت اتاق
- تا یک ماه در ۲۰°C-

مرحله آزمایش: روش اندازه‌گیری

- اندازه‌گیری فعالیت (RPA)
- اندازه‌گیری جرم (ایمونواسی)

مرحله آزمایش: اندازه گیری RPA

- براساس میزان تولید آنژیوتانسین I از آنژیوتانسینوژن توسط رنین در37°C
- تحت تأثیر

pH محیط

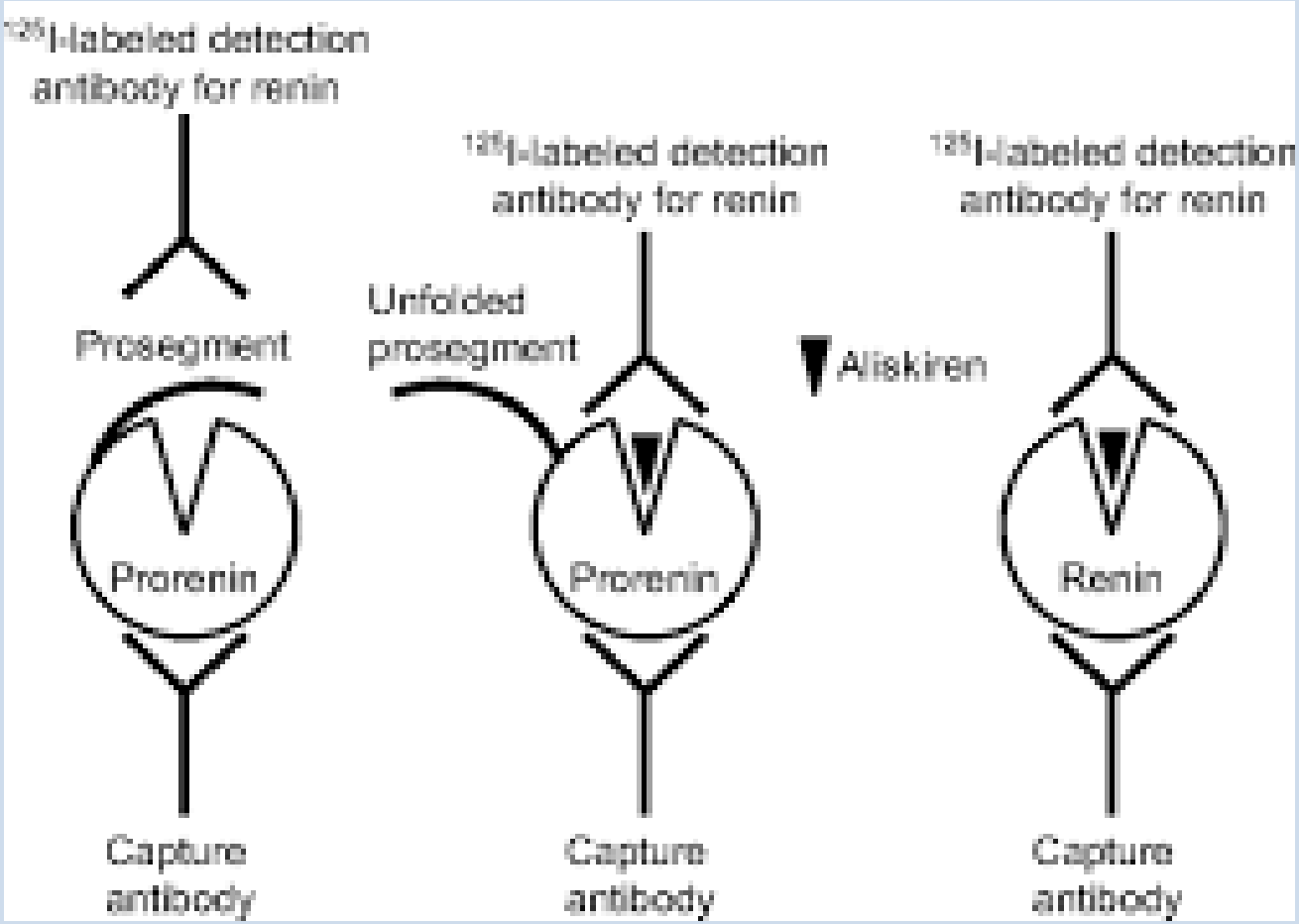
زمان انکوباسیون

شرایط نگهداری نمونه

میزان آنژیوتانسین I موجود

میزان آنژیوتانسینوژن موجود

مرحله آزمایش: ایمونواسی غیررقابتی



مرحله بعدآزمایش: دامنه مرجع

- دامنه مرجع وابسته به زمان نمونه گیری، وضعیت بدن، میزان مصرف نمک و مصرف دارو
- براساس یکی از روش ها

Supine : 2.8 – 39.9 mIU/L

Upright : 4.4 – 46.1 mIU/L