

VYBRANÉ ENDOKRINNÍ FUNKČNÍ TESTY PŘEHLED ZÁKLADNÍCH PROTOKOLŮ



Je nezbytné, aby výsledky níže popsaných testů byly **VŽDY** interpretovány pouze ve spojení s klinickými příznaky a dalšími laboratorními výsledky. Dále je potřeba níže uvedené laboratorní hodnoty brát jako „orientační“ a při vlastních vyšetřeních používat referenční rozmezí Vámi použité laboratoře.

Z materiálů společnosti Dechra a materiálů citovaných v článku připravila
MVDr. Martina Mudráková

Návic vzhledem k neustále probíhajícímu výzkumu a vývoji mohou být již dostupné novější postupy a protokoly (např. Pre-pill kortizol test pro monitoring léčby pacientů s Cushingovým syndromem z roku 2017), nicméně níže popsané protokoly jsou zatím považovány za standardně používané.

I. PORUCHY FUNKCE KŮRY NADLEDVIN A HYPOFÝZY

A. FUNKČNÍ TESTY

ACTH Stimulační test:

Princip: Posuzujeme sekreční schopnost kůry nadledvin. Podání ACTH vede k uvolnění zásob kortizolu z hyperplastických i z neoplastických nadledvinek.

Tento test je poměrně rychlý a relativně cenově dostupný (v porovnání s dalšími funkčními testy). Má vysokou senzitivitu (schopnost odhalit nemocná zvířata), ale poměrně nízkou specifitu (neumí rozpoznat falešně pozitivní jedince).

Je vhodný pro:

1. Skrínigové vyšetření Cushingovy choroby (CS), primárně pro iatrogenní formu CS
2. Monitoring léčby Cushingovy choroby (CS)
3. Skrínigové vyšetření Addisonova choroby psů (ACH)

Psi: Ke stimulaci lze použít syntetický ACTH – tetracosactide neboli cosyntropin (v EU obvykle Synacthen 0,25 mg/ml, Cortrosyn 0,25 mg/ml, Cosyntropin 0,25 mg/ml) jako:

- injekční roztok v dávce 0,25 mg anebo 5 mcg/kg pro toto i.m. nebo i.v. (preferováno)
- gel v dávce 20 IU pro toto i.m.

Kočky: ke stimulaci lze použít syntetický ACTH jako injekční roztok v dávce 0,125 mg pro toto i.v.

Provedení:

- (Při monitoringu terapie CS se první odběr krve provádí 4-6 hodin po aplikaci Vetorylu);
- odeberete krevní vzorek (heparinizovaná krev nebo sérum) pro bazální hodnotu kortizolu před aplikací stimulační látky;

- aplikujte stimulační látku;
- další krevní vzorek odeberte za 30-90 minut při i.v. aplikaci nebo 1 hodinu (pro ACH u psů), 2 hodiny (pro CS u psů) anebo 1,5 hodiny u koček při i.m. aplikaci stimulační látky;
- při použití gelu odeberáme další vzorek za 1 a 2 hodiny u psa i kočky.

Interpretace - hodnoty*:

1. Skrínig CS: normální hodnoty bazálního kortizolu u zdravých psů (30 – 125 nmo/L) se po stimulaci zvýší 2-3x (na 200 - 550 nmol/L), ale hladina kortizolu obvykle zůstane < 450 nmol/L. Při hodnotách po stimulaci > 550 nmol/L lze uvažovat o CS.
2. Monitoring terapie CS: hodnoty kortizolu před a po stimulaci při správně zvolené dávce Vetorylu budou v referenčním rozmezí (obvykle 55 – 280 nmol/L).
3. Skrínig Addisonovy choroby: hodnoty kortizolu před a po stimulaci < 30 nmol/L ukazují na diagnózu.

POZOR: Hladinu kortizolu může zvýšit jakýkoliv stres - interpretace je potom obtížná. Také zpracování a manipulace s krevním vzorkem může velmi ovlivňovat výsledek vyšetření.

Supresní test s nízkou dávkou dexametazonu (LDDT)

Princip: ACTH z hypofýzy (kontrolované hypotalamem) stimuluje kůru nadledvin k produkci kortizolu. Rostoucí hladiny kortizolu vede ke snížení sekrece ACTH cca na 1-2 dny (princip negativní zpětné vazby).

To stejné se stane, pokud je podán dexametazon. Aplikace dexametazonu tedy vede k supresi hypofýzy a činnosti nadledvinek a k poklesu hladiny kortizolu v séru (plasmě).

Test je alternativou ACTH stimulačního testu.

Tento test má nejlepší senzitivitu 85-95%, avšak nízkou specifitu (70-75%).

Je vhodný pro potvrzení/vyvrácení diagnózy CS u psů bez výrazných klinických projevů.

Psi: K supresi aplikujte 0,015mg/kg dexametazonu (v EU např. Azium) i.v. nebo i.m.

Kočky: K supresi aplikujte 0,1mg/kg dexametazonu (v EU např. Azium) i.v. nebo i.m.

Provedení:

- Brzy ráno odeberete krevní vzorek (heparinizovaná krev nebo

- sérum) pro bazální hodnotu kortizolu před aplikací dexametazonu;
- aplikujte dexametazon v požadované dávce (viz. výše);
- další krevní vzorek odeberte za 4 (3) hodiny a za 8 hodin po této aplikaci.

Interpretace - hodnoty*: máme 3 základní vzorce

1. Suprese (> 50% po 4 h) - hladina kortizolu po aplikaci supresní látky po 4 (3) i po 8 hodinách je < 30 nmol/L = zvíře pravděpodobně nemá CS.
2. Nízká suprese - hladina kortizolu u všech tří odběrů (0, 4 a 8 hodin) je > 30 nmol/L = odpovídá diagnóze CS.
3. „Únik“ ze suprese - hladina kortizolu po aplikaci supresní látky je po 4 hodinách < 30 nmol/L, ale po 8 hodinách je > 30 nmol/L = pes má CS (hypofyzární formu).

Supresní test s vysokou dávkou dexametazonu (HDDT)

Princip: Test vychází ze skutečnosti, že při hypofyzárním CS není zablokovan mechanismus zpětné vazby (alespoň ne zcela), ale u adrenální CS nelze sekreci kortizolu ovlivnit. Tento test se neprovádí u koček.

Je vhodný pro rozlišení mezi adrenálním a hypofyzárním hyperadrenokorticismem.

Provedení:

- Odeberete krevní vzorek (heparinovaná krev nebo sérum) pro bazální hodnotu kortizolu před aplikací dexametazonu;
- aplikujte dexametazon v dávce 1mg/kg i.v. nebo i.m.;
- další krevní vzorek odeberte 4 hodiny a 8 hodin po této aplikaci.

Interpretace - hodnoty*:

1. Jakákoli hladina kortizolu změřená v intervalu 8 hodin s hranicí < 45 nmol/L potvrzuje PDH formu CS.
2. Nízká suprese (všechny hodnoty zůstaly > 45 nmol/L) jsou diagnostické pro nádor nadledvin.

B. SAMOSTATNÁ HORMONÁLNÍ ANALÝZA

Poměr kortizol/kreatinin v moči

Dva možné způsoby odběru:

- Směsný odběr 3 vzorků moči o stejném objemu získaných během 24 hodin.
- 2 vzorky ranní moči odebrané min. 2 dny po návštěvě veterinárního zařízení.

Interpretace - hodnoty*:

Poměr kortizol a kreatinin:

- 1. a 2. dne: 15×10^{-6} vyloučení Cushingova syndromu
- 1. a 2. dne: 15×10^{-6} až 25×10^{-6} dubiozní výsledek
- 1. a 2. dne: > 25×10^{-6} potvrzení Cushingova syndromu

Endogenní ACTH

Princip: Při hypofyzární formě CS dochází k nadměrné produkci ACTH. Interpretace je ale obtížná, protože ACTH se neuvolňuje během dne v konstantní hladině a navíc jeho uvolnění podléhá stresu.

Je vhodný pro:

1. Pro rozlišení hypofyzární a adrenální formy CS.
2. Možno použít i pro diagnostiku primární formy Addisonovy choroby

Provedení:

- Odběr krve na EDTA – ideálně mezi 8. a 10. hodinou;
- separace plazmy a zmrazení (vše ideálně do 15 minut po odběru);
- pokud nemohu plazmu odstředit hned, je nutné dát vzorek do chladu a zpracovat nejdéle do 8 hodin po odběru;
- zchlazený vzorek (4-6°C) musí do laboratoře dorazit do 24h.

Interpretace-hodnoty*:

1. Vysoké hladiny > 5,5 pmol/L jsou typické pro PDH.
2. Nízké hladiny < 1,1 pmol/L jsou typické pro ADH.

3. Extrémně vysoké hladiny > 20 pmol/L podezření na primární hypoadrenokorticismus.

II. PORUCHY FUNKCE ŠTÍTNÉ ŽLÁZY

A. FUNKČNÍ TESTY

U všech stanovení hormonů štítné žlázy myslete na jiná **nethyroidální onemocnění (NTI)** psů a koček a podávané léky, které snižují jejich hodnoty.

Mezi časté NTI řadíme – hyperadrenokorticismus, hypoadrenokorticismus, diabetes mellitus, akutní infekce, pyodermie, nemoci ledvin, jater a srdce a další.

Léky: NSAID, glukokortikoidy sulfonamidy, některá anestetika, anti-konvulziva. Pokud je to možné, je vhodné před provedením testů na funkčnost štítné žlázy tyto léky vysadit alespoň měsíc předem.

Dalším bodem, který ovlivňuje diagnostiku onemocnění štítné žlázy je tzv. **euthyroidní sick syndrom (ESS)**. Hladiny hormonů štítné žlázy jsou sníženy, ale pacient vykazuje mírné nebo žádné klinické příznaky onemocnění štítné žlázy.

Pro diagnózu hypotyreózy u psů se nejčastěji doporučuje kombinace vyšetření: T4, FT4 a TSH, popř. protilátky proti tyreoglobulinu.

Pro diagnózu hypertyreózy u koček se doporučuje kombinace vyšetření: T4, FT4, supresní test T3

TSH stimulační test (Trijodthyronin supresní test)

Princip: Tento test zjišťuje funkční kapacitu štítné žlázy po její maximální stimulaci.

Je vhodný jako:

1. Standardní test v diagnostice hypotyreózy u psů.
2. U zvířat s NTI nebo medikací slouží pouze k vyloučení hypotyreózy. Nevýhodou je špatná dostupnost a vysoká cena stimulační látky (lidský rekombinantní TSH).

Provedení:

- Odeberte krev pro stanovení bazální hladiny tyroxinu;
- aplikujte 0,5 U/kg TSH (maximální dávka je 5 U) i.v. (i.m.);
- za 6 hodin po aplikaci stimulantu odeberte další vzorek krve pro stanovení tyroxinu.

Interpretace – hodnoty*:

1. Post TSH T4 > 35 nmol/L = normální (euthyroidní) stav.
2. Post TSH T4 < 20 (35) nmol/L = hypotyreóza.
3. Hodnoty mezi 20-30 nmol/L nejsou zcela průkazné (raná hypotyreóza, NTI, medikace).

TRH stimulační test

Princip: Stimulace hladin T4 v séru.

Je vhodný pouze o vyloučení hypotyreózy u psů, protože i zdraví psi mohou vykazovat nízkou stimulaci.

Provedení:

- Odeberte krev pro stanovení bazální hladiny tyroxinu;
- aplikujte 0,1mg/kg THR i.v. – aktuálně nedostupný;
- za 4 hodiny po aplikaci stimulantu odeberte další vzorek krve pro stanovení tyroxinu.

Interpretace – hodnoty*:

1. Stimulace v referenčním rozmezí = Post T4 > 20 nmol/L = normální (euthyroidní) stav.
2. Malá stimulace = Post T4 < 20 nmol/L = hypotyreóza.

T3 supresní test

Princip: Zdravé kočky na podání T3 reagují významnou supresí T4. Toto pravidlo neplatí u koček s hypertyreózou a k supresi T4 po podání T3 nedojde a/nebo je malá.

Je vhodný pro potvrzení diagnózy hypertyreózy koček.

Provedení:

- Odebere krev pro stanovení bazální hladiny tyroxinu a T3 (získejte sérum, které dejte do lednice nebo zamrazte);
- je potřeba opakovaná perorální aplikace liothyroninu (Thybon, Henning) a to v dávce 25 mcg pro toto 7x v intervalu 8 hodin. JE NUTNÁ compliance s majitelem ;
- druhý vzorky (T4 a T3) odebere po 2-4 hodinách po podání poslední tablety.

Interpretace – hodnoty*:

1. Suprese > 50% bazální hodnoty = normální (euthyroidní) stav.
2. Suprese < 50% bazální hodnoty a/nebo Post - T4 > 20 nmol/L = hypertyreóza.

B. SAMOSTATNÁ HORMONÁLNÍ ANALÝZA**Měření celkového T4 (TT4) - PSI**

Princip: Celkový T4 se skládá z volné a vázané frakce. Protože T4 vzniká jen ve štítné žláze, je velmi vhodným ukazatelem pro hypotyreózu psů. Velmi malé procento psů vytváří protilátky proti T4 (cca 1%) – zde je vhodné vyšetřit volný T4 (FT4) metodou rovnovážné dialýzy a/nebo detekovat protilátky proti T4.

Provedení:

- Odběr krve na TT4 za 3-6 hodin po podání léku, tzv. maximální koncentrace (ideální hodnoty 30-47 nmol/L);
- doporučuje se dělat opakované odběry TT4 v intervalu dnů – týdnů a je vhodné je dělat vždy ve stejnou denní dobu;
- toto vyšetření lze / je vhodné spojit s vyšetřením TSH, popř. volného T4.

Interpretace: hodnoty také záleží na laboratorní metodě stanovení TT4 (nejpřesnější je metoda radio- immuno-assay, pak chemiluminiscence a nakonec ELISA), hodnoty*:

1. Nízké hodnoty odpovídající hypotyreóze < 10 nmol/L, popř. nízké hraniční hodnoty 10-20 nmol/L.
2. Normální hodnoty u zdravých psů 15- 25 nmol/L, jako hraniční „normální hodnotu“ někdy považujeme až do 64 nmol/L.
3. Vysoké hladiny 25-80 nmol/L - s vysokou pravděpodobností se jedná o euthyroidní sick syndrom.
4. Hodnoty > 80 nmol/L - předávkování thyroxinem nebo hypotyreóza s protilátkami proti T4.

Hodnoty TT4, kterých bychom měli dosáhnout u správně substituovaného pacienta, jsou v rozmezí 39-77 nmol/L.

Měření celkového T4 (TT4) - KOČKY

Princip: Celkový T4 se skládá z volné a vázané frakce. Protože T4 vzniká jen ve štítné žláze, je velmi vhodným ukazatelem pro hypertyreózu koček.

Vyšetření celkového T4 (TT4) je pro hypertyreózu koček diagnostickým testem.

Provedení:

- Odběr krve kdykoli během dne bez závislosti na době podání léku;
- doporučuje se dělat opakované odběry TT4 v intervalu dnů – týdnů.

Interpretace: hodnoty také záleží na laboratorní metodě stanovení TT4 (nejpřesnější je metoda radio- immuno-assay, pak chemiluminiscence a nakonec ELISA), hodnoty*:

1. Nízké hodnoty neodpovídající hypertyreóze < 13 nmol/L.
2. Normální hodnoty u zdravých koček 13-55 nmol/L.
3. Podezření na hypertyreózu > 55 nmol/L.
4. Vysoké podezření na hypertyreózu > 64 nmol/L (nereaguje okolo 10% koček, např. v rané fázi nebo s mírným průběhem). Doporučuje se udělat T3 supresní test nebo nechat stanovit FT4.

Hodnoty TT4, kterých bychom měli dosáhnout u správně substituovaného pacienta, by se měly pohybovat při spodní hranici normálního rozmezí.

Měření volného T4 (FT4)

Princip: Měří se pouze volná frakce T4.

Nejlépeší metodou měření FT4 je **rovnovážná dialýza**, kdy se T4 vázaný na bílkoviny oddělí a měří se pouze FT4 a to v dialyzátu.

Je vhodný pro pacienty:

1. Se euthyroidním sick syndromem, kdy tato hodnota není u nich ovlivněna (na rozdíl o TT4, které je ovlivněno výrazně).
2. S hodnotami TT4 v horní polovině normy.

Vyšetření volného T4 má vysokou senzitivitu.

Interpretace: snížení FT4 = naznačuje hypotyreótu

Stanovení endogenního TSH (psi)

Princip: Nízké hodnoty T4 vedou ke zvýšené sekreci TSH (princip negativní zpětné vazby).

U primární hypotyreózy psů se T4, FT4 snižují a koncentrace TSH se zvyšuje.

ALE u 20-40% psů s hypotyreózou TSH je v referenčním rozmezí (raná hypotyreóza, NTI, léky)

Má tedy nízkou senzitivitu, ale vysokou specifitu (schopnost detekovat zvířata bez této nemoci, resp. falešně pozitivní). Je vhodné jej vždy stanovit a vyhodnocovat spolu s TT4.



TABULKA č.1**

Hormon	Jednotka	Pes	Kočky
Adrenokortikotropní hormon (plazma)			
Basální (ACTH, plazma)	pmol/L	2-15	1-20
Aldosteron (plazma)			
Bazální	pmol/L	14-957	194-288
Post-ACTH	pmol/L	197-2103	277-721
Kortizol (sérum, plazma, moč)			
Bazální	nmol/L	25-125	15-150
Post-ACTH	nmol/L	200-550	130-450
Post-LDDH (0,01-0,15 mg/kg)	nmol/L	<40	<40
Post-HDDL (0,1-1 mg/kg)	nmol/L	<40	<40
Poměr kortizol-kretainin v moči	x 10 na -6	8-24 (10)	-
Inzulin, bazální (plazma)	pmol/L	35-200	35-200
Parathormon (sérum)	pmol/L	2-13	0-4
Progesteron (plazma, sérum – samice)	mmol/L	<3 in anestrus, proestrus 50-220 in diestrus, pregnancy	
Testosteron (plazma, sérum – samci)	mmol/L	1-20	1-20
Tyroxin (T4, sérum)			
Bazální	nmol/L	12-50	10-50
Post- TSH	nmol/L	> 45	> 45
Trijodthyronin supresní test	nmol/L	-	<20
Trijodthyronin, bazální (T3, sérum)	nmol/L	0,7-2,3	0,5-2,0

TABULKA č.2 – Převody**

Parametr	Konvenční jednotky	Koeficient	Jednotky SI
ACTH (corticotropin)	pg/mL	0,22	pmol/L
Aldosteron	ng/dL	27,7	pmol/L
Kortizol	mcg/dL	27,6	nmol/L
Kreatinin	mg/dL	88,4	umol/L
FT3	ng/L	1,54	pmol/L
FT4	ng/dl	12,87	pmol/l
T3	ng/L	1,54	nmol/L
T4	mcg/dL	12,87	nmol/L

TABULKA č.3**

Parametry	Interpretace / další testy
Snížený T4 a zvýšený cTSH	hypotyreóza (velmi vysoká pravděpodobnost)
Snížený T4 a normální cTSH	hypotyreóza (pravděpodobná), ale hleďte NTI, léky – lze provést TSH stimulační test
Normální T4 a zvýšený cTSH	nepravděpodobná hypotyreóza (výjimku tvoří protilátky proti T4) a/nebo hleďte NTI, léky, protilátky proti T4 – lze využít FT4

*vždy je potřeba vycházet z referenčního rozmezí dané laboratoře!!!

**Zdroj: Larry P.Tilley, Francis W.K.Smith, Jr. – Blackwell's five-minute veterinary consult: canine and feline

