

Glukokortikoider (Serum och Saliv)

S-Kortisol(MS) (SKA07842)**S-Kortison (NPU54693)****S-Prednisolon (SKA01414)****S-Betametason (SKA04435)****S-Dexametason (NPU57883)****Saliv-Kortisol(MS) (SKA08298)****Saliv-Kortison (SKA03737)****Saliv-Prednisolon (SKA02545)****Saliv-Betametason (SKA04575)****Saliv-Dexametason (SKA06942)**

Bakgrund, indikation och tolkning

Kortisol är den viktigaste glukokortikoiden hos människa. Det bildas i binjurebarkens zona fasciculata och zona reticularis. Syntes och sekretion stimuleras av ACTH, varför kortisolkoncentrationen i plasma varierar under dygnet med högst koncentration på morgonen och lägst vid midnatt. Omkring 90 % av Kortisol i plasma är proteinbundet (transkörtin c:a 75 % och albumin c:a 15 %). Huvudparten av den bildade mängden kortisol metaboliseras i levern och utsöndras som olika inaktiva derivat i urinen. Analys av kortisol i serum och/eller urin utgör förstahandsanalys vid utredning av misstänkt rubbning i binjurebarkfunktionen [1].

Hyperkortisolism (ökad glukokortikoidpåverkan) kan ha endogen (ökad bildning och frisättning av kortisol från binjurebarken) eller exogen orsak som vid tillförsel eller intag av suprafysiologiska doser av naturlig (kortisol) eller syntetisk glukokortikoid. På grund av negativ feed-back ses vid behandling med syntetiska glukokortikoider sänkta halter av kortisol i serum. Sänkta kortisolhalter ses också vid primär och sekundär binjurebarksinsufficiens.

Bestämning av kortisol utförs vid misstanke på rubbningar i binjurebarkfunktionen förenade med ökad eller minskad frisättning av kortisol. Bestämning av syntetiska glukokortikoider (Prednisolon, Betametason och Dexametason) kan ge information vid utredningen av oklara rubbningar i binjurebarkfunktionen eller vid sänkta kortisolhalter av oklar anledning. Vid dexametasonhämningstest bör bestämningen av Kortisol kompletteras med mätning av Dexametason för att försäkra sig om att hämningen varit adekvat [2]. Den aktuella LC-MS/MS metoden är också användbar vid utredning av analytisk interferens i den immunologiska mätmetoden för Kortisol.

Mätning av kortisol och kortison i saliv är ett alternativ vid utredning av bla misstanke på Cushings syndrom. Kortisol i saliv avspeglar den fria fraktionen av kortisol i plasma och koncentrationen är därför oberoende av bindarprotein i plasma. Provtagningen är också enkel och icke-invasiv vilket ger möjlighet till upprepad provtagning även i hem- eller arbetsmiljö. I saliv konverteras majoriteten av kortisol till kortison varför kortisol/kortison-kvoten i median är ca 0,2 till skillnad från i blod där man ser det omvända förhållandet. Således indikerar en kortisol/kortison-kvot på > 1,0 på blodtillblandning eller exogen kortisoltillförsel och att provet inte är tillförlitligt. [3,5]

Glukokortikoider**Analysprincip**

Steroiderna analyseras med dess deuterium-inmärkt analoger som intern standard (IS). Till serum eller saliv sätts acetonitril (ACN), innehållande IS, för fällning av proteiner, proverna centrifugeras, varefter supernatanten späds med mobilfas. Alla prover analyseras sedan med vätskekromatografi-masspektrometri (LC-MS/MS), en teknik som ger hög känslighet och mycket hög selektivitet.

LC-MS/MS systemet är av typen trippel kvadrupol masspektrometer kopplat till en HPLC. Separation av olika provmolekyler sker i en kolonn packade med silica-partiklar. Provmolekyler joniseras i jonkällan, med tekniken *electrospray ionization* (ESI). I första kvadrupolen selekteras molekyljonen för aktuell substans som sedan fragmenteras, vid specifik energi, i andra kvadrupolen. I den tredje kvadrupolen selekteras ett fragment av molekyljonen, vanligtvis det med störst intensitet. Den resulterande jonintensiteten mäts med en detektor.

Referensintervall**Riktområde serum**

Kortisol	kl. 06-10: 133 – 537 nmol/L, kl. 16-20: 68 – 327 nmol/L [3]
Kortison	kl. 08-10: 28 - 90 nmol/L [4]
Prednisolon	-
Betametason	-
Dexametason	> 3,3 nmol/L vid Dexametasonhämningstest [2]

Riktområde saliv [5]

Kortisol	kl 08: 2,7–22,9 nmol/L, kl 22-23: <3,7 nmol/L kl 08: efter lågdexametasonhämning: <0,80 nmol/L
Kortison	kl 08: 14,4-57,5 nmol/L, kl 22-23: 1,5–13,5 nmol/L kl 08: efter lågdexametasonhämning: <3,6 nmol/L
Kortisol/Kortisonkvot	< 1,0

Metodkaraktistika**Interferenser och felkällor**

Påverkan av hemolys, hyperlipidemi, hyperbilirubinemi och uremi är inte testad men antas vara försumbar tack vare den höga selektiviteten hos LC-MS/MS.

Mätområde (serum och saliv)

Komponent	Kvantifieringsgräns, nmol/L	Mätintervall, nmol/L
Kortisol	0,50	0,50–1000
Kortison	0,50	0,50–1000
Prednisolon	1,0	1,0–1000
Betametason	0,50	0,50–1000
Dexametason	0,50	0,50–1000

Metodbeskrivning

GlukokortikoiderGäller för
Klinisk kemi

LU

Mätosäkerhet

Mätosäkerheten är beräknad på analys av interna kontrollprover. CV för nivå 3, 600 resp 400 nmol/L baseras på 60 prover analyserade under 16 månader. CV för nivå 1,5 nmol/L baseras på 10 prover analyserade under en månads tid.

Komponent	Mätosäkerhet, CV% (serum och saliv)					
	Nivå (nmol/L)	Mellan dag (CV%)	Nivå (nmol/L)	Mellan dag (CV%)	Nivå (nmol/L)	Mellan dag (CV%)
Kortisol	1,5	10,1	3,0	8,5	600	4,5
Kortison	1,5	9,5	3,0	7,3	400	4,4
Prednisolon	1,5	7,7	3,0	7,4	600	3,1
Betametason	1,5	4,8	3,0	8,3	600	4,2
Dexametason	1,5	8,2	3,0	5,7	600	3,7

Riktighet

Extern kontrollprogram finns endast för Kortisol i serum, EQUALIS, Endokrinologi. Analyseras 6 ggr/år.

Spårbarhet

Kalibreringen är spårbar via analyscertifikat från respektive leverantör av referenssubstanser [Bilaga 1].

Validering

Valideringen har utförts vid Klinisk kemi och farmakologi [7].

Övrig information

Metoden är endast ackrediterad för Kortisol i serum.

Metodbeskrivning

GlukokortikoiderGäller för
Klinisk kemi

LU

Referenser

1. Theodorsson E, Berggren Söderlund M, red. Laurells Klinisk kemi i praktisk medicin. Lund: Studentlitteratur 2018, 10:e upplagan sid 308-325.
2. Ueland G, Methlie P, Kellmann R et al. Simultaneous assay of cortisol and dexamethasone improved diagnostic accuracy of the dexamethasone suppression test. Eur J Endocrinol 2017; 176:705-713
3. Roche produktblad: Cortisol II, REF 06 687 733 190, 2016-06,V 5.
4. Eisenhofer G, Peitzsch M, Kaden D et al. Reference intervals for plasma concentrations of adrenal steroids measured by LC-MS/MS : Impact of gender, age, oral contraceptives, body mass index and blood pressure status. Clin Chim Acta 2017 ; 470 :115-124
5. Bäcklund N, Brattsand G, Israelsson M et al. Reference intervals of salivary cortisol and cortisone and their diagnostic accuracy in Cushing's syndrome. European Journal of Endocrinology (2020) 182, 569-582.
6. [C-7506, Instrumenthandledning LCMSMS AB SCIEX QTRAP 5500-1 Lund](#)
7. [C-7656, Instrumenthandledning LCMSMS Beräkningar](#)
8. [19-98, Validering – Glukokortikoider](#)
9. [19-162, Analysprotokoll Glukokortikoider](#)
10. [16-1092, Instruktion för utvärdering på LC-MS](#)
11. [C-7665, Serum av plasma, Lund](#)
12. [18-478, Instrumenthandledning LCMSMS AB SCIEX QTRAP 6500plus-2](#)
13. [22-217, Glukokortikoider på 6500plus-2](#)