

## S-17-Hydroxiprogesteron på LCMSMS, NPU02460

### Bakgrund, indikation och tolkning

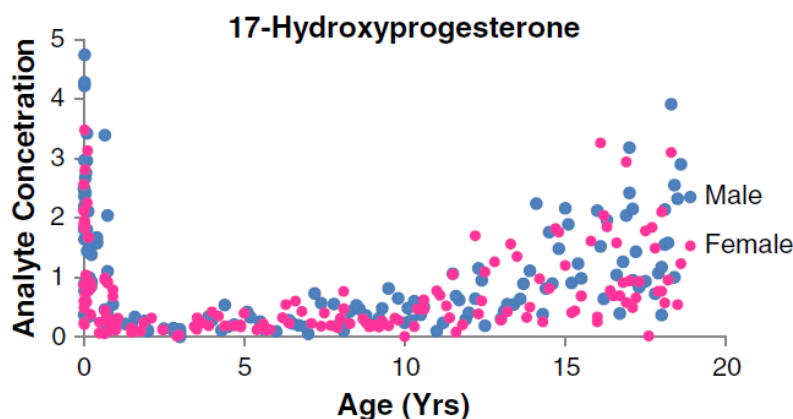
17-Hydroxyprogesteron (17-OH-prog) är ett av förstadierna till kortisol under syntesen i binjuren. Normalt förekommer förstadierna i mycket låg koncentration och omvandlas efter hand till nästa metabolit med hjälp av enzym. 17-OH-Prog omvandlas med hjälp av enzymet 21-hydroxylas till 11-deoxikortisol som i sin tur omvandlas av enzymet 11-hydroxylas till kortisol. Om brist på något av dessa enzymer föreligger bildas för lite kortisol, vilket gör att hypofysen ökar utsöndringen av ACTH för att stimulera binjuren. Detta leder till en kraftig ökning av 17-OH-prog eftersom det pga. enzymbristen inte kan omvandlas vidare mot kortisol. I stället omsätts 17-OH-prog till pregnantriol (som är inaktivt och utsöndras med urinen) och till androgener vilket leder till virilisering.

Bestämning av 17-OH-prog görs vid misstanke på kongenital binjurebarkhyperplasi (CAH) eftersom det vid dessa tillstånd föreligger 21-hydroxylasbrist (eller mera sällsynt 11-hydroxylasbrist) [1].

Nivåerna av 17-OH-progesteron varierar med menstruationscykeln samt intag av preventivmedel. Medianvärde samt intervall inom aktuell grupp. n = 30 – 88 i de olika grupperna. [3]

- Luteal fas: 2,99 nmol/L (0,37–8,28 nmol/L)
- Follikel fas: 1,08 nmol/L (0,36–4,99 nmol/L)
- Postmenopausalt: 0,51 nmol/L (0,19-3,12 nmol/L)
- Oralt preventivmedel 0,42 nmol/L (0,11–2,00 nmol/L)

Nivåerna hos barn är åldersberoende, se figur nedan. [4]



### Analysprincip

Prov och internstandard extraheras via SLE teknik, indunstas till torrhet och återupplöses. Därefter kan analysen utföras med masspektrometri (LC-MS/MS). Masspektrometern QTrap 5500 är en trippel quadropol som består av joniseringskälla och fyra quadropoler, Q 0- Q 3, samt en detektor som reagerar

**S-17-Hydroxiprogesteron**

på joner (positiva eller negativa). Till masspektrometern är ett HPLC-system kopplat och här utförs en on-line extraktion och därefter en separation av analyterna på en analyskolonn.

Provet kommer i vätskefas från HPLC-systemet till masspektrometers joniseringskälla (ESI, elektropray) där vätskan sprayas in. Hög spänning bidrar till en jonisering av provmolekylen och med varm kvävgas tas vätskan bort och jonerna blir fria. Jonerna kommer att passera fyra quadropoler, Q 0-Q 3. Quadropol 1 (Q1) är ett massfilter som sorterar ut analytens moderjon. I Q 2 som är en kollisionscell, slås moderjonen sönder i mindre fragment, s.k dotterjoner. Dessa fragment går vidare till Q3, som liksom Q1 är ett massfilter, där två specifika dotterjoner bestående av en huvudjon och en kvalificeringsjon sorteras ut. I detektorn, en elektronmultiplikator, mäts det specifika masstalet/laddningen (m/z) på analyterna. Huvudjonen och kvalificeringsjonen mäts momentant sammanlagt fem gånger vardera, dessa mätningar adderas sedan i mjukvaran (Analyst) och bidrar till att öka känsligheten betydligt.

Kvoten mellan provets två dotterjoner jämförs med kalibrators kvot. Om kvoten faller inom fastlagda gränser, är en interferens mycket osannolik. Koncentrationen baseras på att en av de uppmätta dotterjonerna relateras till den interna standarden.

**Referensintervall**

Kvinnor: 0,24 - 6,8 nmol/L

Män: 0,87 - 6,2 nmol/L

Barn: Saknas (åldersberoende)

Källa för referensintervall vuxna: Eisenhofer et al. (2017). 2,5 – 97,5 percentilen. [3]

Befintlig metod verifierades mot de publicerade referensvärdena genom analys av 100 blodgivare. De uppmätta referensintervallen (2,5 till 97,5 percentilen) visade god överensstämmelse med de publicerade värdena [2].

**Metodkaraktistika****Interferenser och felkällor**

Inga kända interferenser.

**Mätområde**

Mätområdet är 0,13-2000 nmol/L.

**Kvantifieringsgräns**

Lägst kvantifieringsnivå är 0,13 nmol/L

**Mätosäkerhet**

Mätosäkerheten är baserad på 2021 års precision för interna kontroller.

Nivå nmol/L:	CV
0,83	5%
25,6	6%

Metodbeskrivning

## S-17-Hydroxiprogesteron

Gäller för  
Klinisk kemi

LU

### Spårbarhet

De egengjorda kalibratorerna är inkörda mot Chromsystems Steroid Panel 2 kalibratorer med spårbarhet till NIST referens. Korrelationen blev 0,9998 då egengjorda kalibratorer användes för att mäta Chromsystems kalibratorer, nivåskillnad var -1,28 % där spridning på åsatta värden av Chromsystems kalibratorer är minst 2,2 %. *Se validering av metod för analys av 17-Hydroxiprogesteron med LC-MS (Dok 19-236).*

### Ackreditering

Metoden är ackrediterad.

### Referenser

- 1 Laurells Klinisk kemi i praktisk medicin, 2018, upplaga 10, 319
- 2 Egen metod utarbetad vid specialkemi i Lund, Validering av metod för analys av 17-Hydroxiprogesteron med LC-MS (Dok nr. 19-236).
- 3 Eisenhofer G 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, Clinica Chimica Acta 470 (2017) 115–124
- 4 Kyriakopoulou Let al. A sensitive and rapid mass spectrometric method for the simultaneous measurement of eight steroid hormones and CALIPER pediatric reference intervals. Clinical Biochemistry 46 (2013) 642-651