

Einfluss von Lagerzeit und Temperatur auf den Cortisolgehalt in Blutproben beim hund

Autor(en): **Thun, R. / Lutz, H.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **126 (1984)**

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-588433>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Aus dem Institut für Zuchthygiene (Direktor: Prof. Dr. K. Zerobin)
und der Veterinär-Medizinischen Klinik (Direktor: Prof. Dr. P. Suter) der Universität Zürich

Einfluss von Lagerzeit und Temperatur auf den Cortisolgehalt in Blutproben beim Hund

von R. Thun¹ und H. Lutz

Erkrankungen der Nebennierenrinde (NNR) kommen beim Hund und vor allem bei der Katze nur selten vor. Meistens handelt es sich um eine adrenocorticale Überfunktion (Cushing-Syndrom), die in mehr als 80% der Fälle durch eine bilaterale Hyperplasie und in rund 15% der Fälle durch NNR-Tumoren verursacht wird. Das Krankheitsbild der NNR-Insuffizienz (Addison'sche Krankheit) ist als primäre endokrine Erkrankung noch seltener als das Cushing-Syndrom anzutreffen, wobei vorwiegend iatrogene Ursachen als Folge von unsachgemäss durchgeführten Therapieversuchen (z.B. Lysodren®) im Vordergrund stehen. Häufiger jedoch sieht der praktizierende Tierarzt Patienten, die ihn aufgrund der Anamnese und des klinischen Befundes differentialdiagnostisch an eine NNR-Dysfunktion denken lassen. In solchen Situationen bietet sich die Bestimmung des Plasmacortisols als zuverlässiges diagnostisches Kriterium zur Abklärung der NNR-Funktionen an. Da die Cortisolsekretion verschiedenen endogenen und exogenen Einflüssen unterworfen ist (ACTH, diurnale Schwankungen, Stress), sei allerdings daran erinnert, dass die labordiagnostische Aussagekraft einer Einzelprobe im Vergleich zu Funktionsuntersuchungen mit mehreren Blutentnahmen wesentlich eingeschränkt ist.

Im Zusammenhang mit der Übernahme der NNR-Labordiagnostik bei Patienten der Veterinär-Medizinischen Klinik durch das Hormonlabor des Instituts für Zuchthygiene – eine Dienstleistung, die auch praktizierenden Kollegen angeboten wird – stellte sich die Frage, welche Faktoren nach der Entnahme von Blutproben bis zum Bestimmungszeitpunkt den Cortisolgehalt beeinflussen können. Die Abklärung dieser Frage erschien auch aufgrund einer früheren Arbeit von *Philip und Marotta* [1] von Bedeutung, wonach beim Hund Cortisol unmittelbar nach der Blutentnahme rasch von Erythrozyten aufgenommen wird, und wenn nicht sofort zentrifugiert, tiefere Werte vorge-täuscht werden. Die genaue Kenntnis dieser Verhältnisse ist umso dringender, da mit empfindlichen radioimmunologischen Nachweismethoden auch kleinste Konzentrationsunterschiede gemessen werden, die u. U. von diagnostischer Bedeutung sein können.

Material und Methoden

Das für die Untersuchungen gebrauchte Blut stammte von 20 verschiedenen Hunden, die an der Veterinär-Medizinischen Klinik hospitalisiert waren.

¹ Adresse: Winterthurerstrasse 260, CH-8057 Zürich

Experiment 1

Von 10 Hunden wurden zur Gewinnung von Plasma bzw. Serum je 2 Blutproben entnommen. Das heparinisierte Blut wurde sofort nach der Entnahme zentrifugiert und auf 4 Aliquots (a–d) von jeweils 150 µl Plasma verteilt. Die Serumprobe wurde während 5 Stunden bei Zimmertemperatur (25 °C) stehen gelassen, und im Anschluss an die Zentrifugation wurde ein Aliquot (e) von 150 µl Serum entnommen. Bis zur Cortisolbestimmung wurden die einzelnen Aliquots wie folgt gelagert:

- a) bei –20 °C
- b) bei 4 °C während 24 Stunden
- c) bei 25 °C während 24 Stunden
- d) bei 25 °C während 48 Stunden
- e) bei 25 °C während 24 Stunden

Experiment 2

Von 10 weiteren Hunden wurde je eine EDTA-Blutprobe gewonnen und gleich nach der Entnahme in 2 Eppendorf-Röhrchen, A und B, gegeben. Probe A wurde sofort zentrifugiert, Probe B hingegen erst nach 8stündiger Lagerung bei Zimmertemperatur. Die weitere Aufbewahrung bis zur Cortisolanalyse erfolgte bei –20 °C. Schon jetzt sei erwähnt, dass sich der Cortisolgehalt zwischen EDTA-behandeltem und heparinisiertem Blut nicht unterscheidet (Ergebnisse unveröffentlicht).

Cortisolbestimmung

Cortisol bestimmten wir in leicht abgeänderter Form nach der von uns früher beschriebenen radioimmunologischen Messmethode [2]. Für die Extraktion des in der unbekanntenen Probe enthaltenen Cortisols genügten 50 µl Plasma oder Serum und 1 ml Äthanol. Nach Eindampfen des Alkohols im Vakuumofen wurden die Cortisolextrakte in 0,5 ml PBS-Puffer (0,14 M Natriumchlorid, 0,01 M Natriumphosphat, 0,1% Gelatine, pH 7,0) aufgenommen und mit je 0,1 ml Antiserum und Tracer ([1,2-³H]-Cortisol) versehen. Im Gegensatz zu früher, wurden die Proben in diesem Versuch nur während 45 Minuten inkubiert (15 Minuten bei 40 °C und 30 Minuten bei 4 °C). Diese Modifikation hat den Vorteil, dass die Resultate schon am nächsten Tag vorliegen.

Statistische Auswertung

Die Prüfung der Lagerungseffekte wurde mittels t-Test für gepaarte Beobachtungen auf dem Signifikanzniveau von 5% durchgeführt.

Ergebnisse und Diskussion

Die Cortisolwerte der in Experiment 1 unterschiedlich behandelten Plasma- und Serumaliquots (a–e) sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Die statistische Auswertung der Daten zeigt, dass die von uns untersuchten Lagerzeiten und Temperaturen die Cortisolkonzentration der einzelnen Aliquots nicht beeinflussten ($P < 0,05$). Auch zwischen Plasma- und Serumproben sind keine Unterschiede im Cortisolgehalt festzustellen, obwohl bei der Serumgewinnung das geronnene Blut erst 5 Stunden nach der Entnahme zentrifugiert wurde. Allerdings ist zu berücksichtigen, dass eine, wenn auch nur unvollständige Phasentrennung (Sedimentation der Erythrozyten) schon nach einer Stunde zu beobachten war, doch scheint diese Zeit zur Aufnahme messbarer Mengen Cortisol durch die Erythrozyten nicht auszureichen. Unseren Ergebnissen kann demnach entnommen werden, dass sich sowohl Plasma als auch Serum für die Cortisolbestimmung eignen, eine Beobachtung, die mit den Befunden von *Olson et al.* [3] übereinstimmt.

Tabelle 1: Cortisolwerte (ng/ml) im Plasma und Serum nach unterschiedlicher Lagerung (s. Material und Methoden)

Hunde Nr.	Plasma				Serum
	a	b	c	d	e
1	9,1	8,4	8,8	8,5	9,0
2	6,4	6,6	6,5	6,8	6,3
3	19,3	18,6	17,9	18,8	18,3
4	42,5	40,3	41,0	40,6	41,8
5	17,6	16,6	17,0	16,4	17,5
6	20,4	21,1	19,8	20,9	20,1
7	14,2	13,8	14,4	15,0	14,8
8	15,8	15,1	16,5	15,5	15,4
9	15,4	16,6	16,0	15,3	15,7
10	10,2	10,0	9,1	9,6	9,8

Tabelle 2: Plasmacortisolwerte (ng/ml) von EDTA-Blut, das sofort nach der Entnahme (A) oder erst nach 8stündiger Lagerung bei 25 °C (B) zentrifugiert wurde

Hunde Nr.	Plasma (EDTA)	
	A	B
11	26,2	27,4
12	13,6	13,4
13	5,7	6,0
14	9,6	9,1
15	43,6	38,8
16	25,7	24,3
17	64,3	51,5
18	16,0	15,4
19	37,6	35,1
20	6,5	7,2

Die Resultate des 2. Versuches, bei dem es um die Abklärung ging, ob Cortisol durch Lagerung von EDTA-Blut an die Erythrozyten gebunden wird und somit für die Bestimmung verlorengelassen, sind in Tabelle 2 dargestellt. Beim Vergleich der jeweiligen Werte A und B der entsprechenden Hunde fällt auf, dass sich die Cortisolkonzentrationen mit Ausnahme der Nummern 15 und 17 nicht signifikant voneinander unterscheiden. Hingegen muss nach 8stündiger Lagerung bei Zimmertemperatur ohne Zentrifugation mit einem Verlust an messbarem Cortisol gerechnet werden, wenn in einer Probe Mengen von mehr als 40 ng/ml enthalten sind. Dies ist besonders bei Tier Nr. 17 der Fall, bei dem sich die beiden Werte A und B um mehr als 12 ng unterscheiden. Die Gründe, warum dieser Lagerungseffekt vor allem bei Proben mit anfänglich hohem Cortisolgehalt zu beobachten ist, sind unbekannt. Es wird in diesem Zusammenhang auf die protektive Wirkung des Corticosteroidbindenden Globulins (CBG) hingewiesen, doch steht der endgültige Beweis dazu noch aus.

Für den Kleintierpraktiker, der zur Cortisolbestimmung Blutproben ins Labor einschicken möchte, ergeben sich aufgrund der vorliegenden Untersuchungsergebnisse folgende Hinweise: Zur Cortisolanalyse eignen sich Plasma wie auch Serum, wobei es keine Rolle spielt, ob EDTA oder Heparin als Antikoagulantien zugesetzt werden. Nach der Blutentnahme sollte die Probe möglichst rasch zentrifugiert werden, da nach mehrstündiger Lagerung von EDTA-Blut ohne Zentrifugation mit einem Cortisolverlust gerechnet werden muss. Dieser Effekt zeigt sich besonders in Proben mit einem hohen Cortisolgehalt, wie dies im Falle einer Überfunktion (Stimulation) der NNR zu erwarten ist. Plasma (Serum) kann während mindestens 2 Tagen (Transport!) bei Zimmertemperatur ohne Beeinflussung der Cortisolkonzentration gelagert werden.

Zusammenfassung

Es wurden verschiedene Lagerungseffekte auf den Cortisolgehalt in Blutproben beim Hund untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass Plasma wie auch Serum bei Zimmertemperatur während mindestens 2 Tagen ohne Beeinflussung der Cortisolkonzentration gelagert werden können. Eine mehrstündige Lagerung von EDTA-Blut bei Zimmertemperatur ohne Zentrifugation senkt den ursprünglich vorhandenen Cortisolgehalt.

Résumé

Recherche sur les différentes modifications de la teneur en Cortisol du sang de chien après entreposage des échantillons. Les résultats montrent que le plasma comme le serum peuvent être entreposés au moins 2 jours, à température ambiante, sans influence sur la concentration de Cortisol. Un entreposage de plusieurs heures à température ambiante et sans centrifugation préalable de sang EDTA provoque par contre une diminution du taux de Cortisol.

Riassunto

Vennero esaminati alcuni effetti di conservazione sul contenuto in cortisolo nei campioni di sangue canino. I risultati dimostrano che sia il plasma sia il siero, a temperatura ambiente durante almeno due giorni, possono essere tenuti senza influsso sulla concentrazione del cortisolo. Una conservazione di più ore di EDTA-sangue a temperatura ambiente, senza centrifugazione, abbassa il tenore iniziale del cortisolo.

Summary

Various effects of storage on cortisol concentrations in canine blood samples were investigated. Results demonstrate, that plasma as well as serum may be stored at room temperature for at least 2 days without influencing cortisol concentrations. Storage of EDTA-blood for several hours at room temperature without centrifugation decreases initial cortisol content.

Literaturverzeichnis

[1] Philip E. L. I. and Marotta S. F.: Cellular variation in the uptake and metabolism of cortisol by canine erythrocytes. *Acta Endocrinol.* 68, 771–778 (1971). – [2] Thun R., Eggenberger E., Zerobin K., Lüscher T. and Vetter W.: Twenty-Four-Hour Secretory Pattern of Cortisol in the Bull: Evidence of Episodic Secretion and Circadian Rhythm. *Endocrinology* 109, 2208–2212 (1981). – [3] Olson P. N., Bowen R. A., Husted P. W. and Nett T. M.: Effects of Storage on Concentration of Hydrocortisone (Cortisol) in Canine Serum and Plasma. *Am. J. Vet. Res.* 42, 1618–1620 (1981).

Verdankung

Wir danken Frl. B. Hauri und Frl. H. Sugawara für die geschätzte Mithilfe bei den Laborarbeiten.

Manuskripteingang: 10. November 1983