

# ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH

ČAS. LÉK. ČES., 146  
2007, č. 3, s. 180–304  
CLC EAL 146 (3)  
180–304 (2007)

INDEXED IN:  
EMBASE/Excerpta Medica  
MEDLINE/Index Medicus  
INIS Atomindex  
CHEMICAL ABSTRACTS  
Excerptováno v Bibliographia  
medica czechoslovaca, Scopus

ROČNÍK 146 / 2007, č. 3

## VEDOUcí REDAKTOR

*Doc. MUDr. Petr Bartůněk, CSc.*  
IV. interní klinika 1. LF UK a VFN  
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

## REDAKČNÍ RADA

*Prof. MUDr. Pavel Barták, CSc.*  
Dermatovenerologická klinika 3. LF UK a FNKV  
Šrobárova 50, 100 00 Praha 10

*Prof. MUDr. Jaroslav Blabůš, DrSc.*  
ÚVN, 169 02 Praha 6

*Prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.*  
Ústav hematologie a krevní transfuze  
U Nemocnice 1, 128 08 Praha 2

*Prof. MUDr. Evžen Čech, DrSc.*  
Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN  
Apolinářská 18, 128 08 Praha 2

*Prof. MUDr. Jan Dvořáček, DrSc.*  
Urologická klinika 1. LF UK a VFN  
Ke Karlovu 6, 128 00 Praha 2

*MUDr. Norbert Gaier, CSc.*  
Farmakologický ústav 1. LF UK a VFN  
Albertov 4, 128 00 Praha 2

*Prof. MUDr. Miloš Hájek, DrSc.*  
Chirurgická klinika ÚVN  
U Vojenské nemocnice 1/200, 169 02 Praha 6

*Pavel Hamet, M.D., PhD.*  
Centre hospitalier de l'université de Montreal  
Hotel Dieu, 3840, rue Saint-Urban  
Montreal (Québec) H2W 1T8, Canada

*Prof. MUDr. Jan Holčák, DrSc.*  
Ústav sociálního lékařství LF MU  
Komenského nám. 2, 662 43 Brno

*Prof. MUDr. Zbyněk Hrnčíř, DrSc.*  
II. interní klinika LF UK a FN  
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové

*MUDr. Pavel Jerie*  
Leymenstrasse 49  
4153 Reinach, BL 1  
Švýcarsko

*Prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.*  
I. interní klinika 1. LF UK a VFN  
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

*Doc. MUDr. Josef Kopecký, DrSc.*  
Zdravotně sociální fakulta Ostravské univerzity  
Syllabova 19, 703 00 Ostrava - Zábřeh

*MUDr. Lubomír Kukla, CSc.*  
Oddělení preventivní a sociální pediatrie LF MU  
Bieblova 16, 613 00 Brno

*Prof. MUDr. Jan Petrášek, DrSc. – čestný člen redakční rady*  
III. interní klinika 1. LF UK a VFN  
U Nemocnice 1, 128 08 Praha 2

*Doc. MUDr. Luboš Petruželka, CSc.*  
Onkologická klinika 1. LF UK a VFN  
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

*Prof. Alexander Schirger, M.D.*  
Mayo Clinic, Hypertension W-9  
Rochester, Minnesota 55905, USA

*Doc. MUDr. Petr Smolík, CSc.*  
Psychiatrická klinika LF UK a VFN  
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové

*Prof. MUDr. Martin Vizek, CSc.*  
Ústav patologické fyziologie 2. LF UK  
Plzeňská 130/221, 150 00 Praha 5

*Prof. MUDr. Eduard Zvěřina, DrSc.*  
Klinika ORL a chirurgie hlavy a krku 1. LF UK a FNM  
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

*Prof. MUDr. Aleš Žák, DrSc.*  
IV. interní klinika 1. LF UK a VFN  
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

## KONZULTANTI

*Prof. MUDr. Pavel Martásek, DrSc.*  
Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN  
Ke Karlovu 2, 121 09 Praha 2

*Prof. MUDr. Evžen Růžička, DrSc.*  
Neurologická klinika 1. LF UK a VFN  
Kateřinská 30, 120 21 Praha 2

*Prof. MUDr. Marie Pešková, DrSc.*  
I. chirurgická klinika 1. LF UK a VFN  
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

## OBSAH

## Editorial

Hainer V., Stárka L., Vondra K., Hampl R.: Endokrinologický ústav padesátikem. Jak vstupuje do další padesátky? .....	183
Marek J.: Chvála Endokrinologického ústavu .....	188

## Přehledové články

Stárka L.: Půl století existence Endokrinologického ústavu .....	189
Hampl R., Stárka L.: Historie, současnost a směřování steroidní endokrinologie .....	193
Bendlová B., Vaňková M., Lukášová P., Včelák J., Vejražková D., Kunešová M., Vrbíková J., Zajíčková K., Žofková I., Vondra K., Hainer V.: Studium genetických příčin polygenně determinovaných endokrinopatií – aneb trpělivosti k úspěchu .....	198
Kalvachová B., Dvořáková M., Lisá L.: Léčba růstovým hormonem v Endokrinologickém ústavu .....	205
Potluková E., Límanová Z.: Vztah komplementu a autoimunitních onemocnění štítné žlázy .....	210
Lisá L.: Kvalita života pacientů s poruchou sexuálního vývoje a s Y chromozomem v karyotypu .....	215
Vrbíková J., Bendlová B.: Syndrom polycystických ovarii v roce 2006 .....	218
Bičíková M., Hampl R.: Neurosteroidy a jejich význam .....	223
Lukášová P., Včelák J., Vaňková M., Vejražková D., Bendlová B.: Regulační síť transkripčních faktorů: klíčové role ve vývoji a funkci pankreatu .....	227
Vaňková M., Lukášová P., Zemanová A., Včelák J., Vejražková D., Mazura I., Bendlová B.: Genetické příčiny mitochondriálního diabetu .....	235
Hainerová I.: Vznik obezity na základě mutací genů ovlivňující energetickou bilanci .....	240
Žofková I.: Osteoporóza a ateroskleróza – je mezi nimi patogenetická souvislost? .....	246

## Původní práce

Duškova M., Hill M., Stárka L.: Syndrom polycystických ovarii a jeho mužský ekvivalent .....	251
--	-----

Šterzl I., Hrdá P., Matucha P., Vavrejšnová V., Vondra K., Zamrazil V.: Subklinických endokrinopatií Polyglandulární aktivace autoimunity jako projev .....	256
Zamrazil V., Čeřovská J., Bílek R., Dvořáková M., Němeček J., Vavrejšnová V., Zamrazilová H.: Hodnocení výsledků jodové profylaxe v České republice .....	262
Vondra K., Bendlová B., Šterzl I., Vrbíková J., Zamrazil V.: Diabetes mellitus dospělých diabetiků typu 1 v závislosti na přítomné autoimunitní tyroiditidě vykazuje imunologické, funkční a klinické odlišnosti .....	267
Hrdá P., Šterzl I., Vaňka S., Novák Z., Matucha P., Krommíng A.: Endokrinní orbitopatie a význam autoprotilátek proti 1D proteinu .....	273
Zamrazilová H., Hainer V., Černá M., Kunešová M., Braunerová R., Štěpán J., Nedvídková J., Hill M., Pařízková J.: Vliv časné postnatální výživy u předčasně narozených dětí na jejich antropometrické a hormonální charakteristiky ve věku 10 let .....	278
Wagenknecht M., Hainer V., Kunešová M., Bellisle F., Pařízková J., Braunerová R., Hill M., Lajka J.: Vztahy mezi faktory „Dotazníku jídelních zvyklostí“, socioekonomickým stavem, antropometrickými ukazateli akumulace tuku a zdravotními riziky u české populace .....	284
Macho L., Rovenský J., Rádiková Z., Imrich R., Greguška O., Vigaš M.: Hladiny hormonů v plazmě a v synovialnej tekutině kolenného klbu při reumatoidnej artritide .....	292

## Dějiny lékařství

Schreiber V.: Kusé vzpomínky na Štěpánskou ulici .....	297
Vlček P.: Radioizotopové oddělení v Motole – jak šel čas .....	297

## Zprávy

Knihy .....	301
-------------	-----

## Laureáti Nobelovy ceny

John C.: Robert Koch .....	303
Homolka J.: Význam objevu Roberta Kocha .....	304

## CONTENTS

(No. 3, 1<sup>st</sup> Marz 2007) Journal of Czech Physicians

## Editorial

Hainer V., Stárka L., Vondra K., Hampl R.: The Institute of Endocrinology Celebrates its 50th Anniversary. How is the Institute Poised for the Next 50 Years? .....	183
Marek J.: Laudation for Institute of Endocrinology .....	188

## Review Articles

Stárka L.: Half Century of the Continuation of the Institute of Endocrinology in Prague .....	189
Hampl R., Stárka L.: History, Presence and Trends of Steroid Endocrinology .....	193
Bendlová B., Vaňková M., Lukášová P., Včelák J., Vejražková D., Kunešová M., Vrbíková J., Zajíčková K., Žofková I., Vondra K., Hainer V.: Study of the Genetic Causes of Polygenetically Determined Endocrinopathies – Patience Can Bring Success .....	198
Kalvachová B., Dvořáková M., Lisá L.: Growth Hormone Treatment in the Institute of Endocrinology .....	205
Potluková E., Límanová Z.: The Role of Complement in Autoimmune Thyroid Disorders .....	210
Lisá L.: Quality of Life in the Patients with Disorders of Sexual Development and with Y Chromosome in Karyotype .....	215
Vrbíková J., Bendlová B.: Polycystic Ovary Syndrome in 2006 .....	218
Bičíková M., Hampl R.: Neurosteroids and Their Function .....	223
Lukášová P., Včelák J., Vaňková M., Vejražková D., Bendlová B.: Regulatory Network of Transcription Factors: Their Key Role in the Development and Function of Pancreas .....	227
Vaňková M., Lukášová P., Zemanová A., Včelák J., Vejražková D., Mazura I., Bendlová B.: Genetic Background of Mitochondrial Diabetes .....	235
Hainerová I.: Obesity Based on Mutation of Genes Involved in Energy Balance .....	240
Žofková I.: Osteoporosis and Atherosclerosis – is There Any Pathogenetic Association? .....	246

## Original Articles

Duškova M., Hill M., Stárka L.: The Polycystic Ovary Syndrome and Its Male Equivalent .....	251
---	-----

Šterzl I., Hrdá P., Matucha P., Vavrejšnová V., Vondra K., Zamrazil V.: Polyglandular Activation of Autoimmunity as a Manifestation of Subclinical Endocrinopathies .....	256
Zamrazil V., Čeřovská J., Bílek R., Dvořáková M., Němeček J., Vavrejšnová V., Zamrazilová H.: Evaluation of Results of Iodine Prophylaxis in Czech Republic .....	262
Vondra K., Bendlová B., Šterzl I., Vrbíková J., Zamrazil V.: Diabetes Mellitus in Adult Patients with Type 1 Diabetes Shows Immunological, Functional and Clinical Differences Depending on the Presence of Autoimmune Thyroiditis .....	267
Hrdá P., Šterzl I., Vaňka S., Novák Z., Matucha P., Krommíng A.: Endocrine Orbitopathy and Significance of Autoantibodies Against 1D Protein .....	273
Zamrazilová H., Hainer V., Černá M., Kunešová M., Braunerová R., Štěpán J., Nedvídková J., Hill M., Pařízková J.: Influence of Early Postnatal Nutrition in Preterm Infants on Their Anthropometric and Hormonal Characteristics at the Age of 10 Years .....	278
Wagenknecht M., Hainer V., Kunešová M., Bellisle F., Pařízková J., Braunerová R., Hill M., Lajka J.: Relationships Between the „Eating Inventory“ Factors, Socioeconomic Status, Anthropometric Body Adiposity Indexes and Health Risks in Czech Population .....	284
Macho L., Rovenský J., Rádiková Z., Imrich R., Greguška O., Vigaš M.: Levels of Hormones in Plasma and in Synovial Fluid of Knee Joint of Patients with Rheumatoid Arthritis .....	292

## History of Medicine

Schreiber V.: Fragments of Reminiscence on the Štěpánská Street .....	297
Vlček P.: Radioisotope Department in Motol – The Flow of Time .....	297

## News

Books .....	301
-------------	-----

## Nobel Prize Laureates

John C.: Robert Koch .....	303
Homolka J.: Value of Robert Koch's Discoveries .....	304

<http://www.clsjep.cz>

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2007

## ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH

Vydává Česká lékařská společnost J: Ev. Purkyně, Sokolská 31, 120 26 Praha 2.  
Vedoucí redaktor doc. MUDr. Petr Bartůněk, CSc. Odpovědná redaktorka Mgr. Helena Glezgová.Příspěvky do časopisu lékařů českých procházejí zdvojeným recenzním řízením.  
Articles published in the Journal of the Czech Physicians subject to double review.

Tiskne: Tiskárna Prager – LD s.r.o., Kováků 9, 150 00 Praha 5.

Rozšiřuje: V České republice Nakladatelství Olympia, a.s., Praha, do zahraničí (kromě SR) – Myris Trade s.r.o., V Štíhlách 1311/3, P.O. Box 2, 142 01 Praha 4, ve Slovenské republice Mediaprint Kapa Pressegross, a.s. oddelenie inej formy predaja - P.O. BOX 183, Vajnorská 137, 831 04 Bratislava, tel.: 02/444 588 21, fax: 02/444 588 19, e-mail: predplatne@abompkapa.sk.

Vychází 12x ročně. Předplatné na rok 1152 Kč (1560 Sk), jednotlivé číslo 96 Kč (130 Sk).

Informace o předplatném podává a objednávky českých předplatitelů přijímá: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, tel.: 296 181 805 – Jana Špalová, e-mail: spalova@cls.cz

Informace o podmínkách inzerce poskytuje a objednávky přijímá: Inzertní oddělení ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, tel.: 224 266 253, tel./fax: 224 266 265, e-mail: ntsinzerce@cls.cz

Registrační značka MK ČR E 77.

Rukopisy zasílejte na adresu doc. MUDr. Petr Bartůněk, CSc., IV. interní klinika I. LF UK a VFN, U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2.

Rukopis předán do výroby dne 3. 1. 2007. Zasláné příspěvky se nevracejí, jsou archivovány ČSL JEP. Vydavatel získá otištěním příspěvku výlučné nakladatelské právo k jejich užití. Otištěné příspěvky autorů nejsou honorovány, autoři obdrží bezplatně jeden výtisk časopisu. Vydavatel a redakční rada upozorňují, že za obsah a jazykové zpracování inzerátů a reklam odpovídá výhradně inzerent. Žádná část tohoto časopisu nesmí být kopírována a rozmnožována za účelem dalšího rozšiřování v jakémkoliv formě či jakýmkoliv způsobem, ať již mechanickým či elektronickým včetně pořizování fotokopii, nahrávek, informačních databází na mechanických nosičích, bez písemného souhlasu vlastníka autorských práv a vydavatelského oprávnění. Zpracování pro internet provádí: NT Servis s. r. o., U Kněžské louky 2124/53, 130 00 Praha 3, tel.: 284 818 342-3, fax: 284 820 966, e-mail: ntservis@ntservis.cz, internet: www.ntservis.cz

## EDITORIAL

## Endokrinologický ústav padesátníkem Jak vstupuje do další padesátky?

Hainer V., Stárka L., Vondra K., Hampl R.  
*Endokrinologický ústav, Praha*

## SOUHRN

Ve stručném přehledu jsou shrnuty současné aktivity Endokrinologického ústavu, který v roce 2007 slaví 50. výročí své existence v oblasti výzkumu, léčby a výuky. Výzkum pokrývá široké spektrum témat současné endokrinologie, počínaje tyreologií přes problematiku steroidních hormonů, neuroendokrinologii, imunoendokrinologii, molekulární endokrinologii a genetiku, endokrinologii stárnutí až po výzkum diabetu a obezity. Výzkum obnáší nejen klinické studie, ale i epidemiologická šetření a otázky základního výzkumu. Každoročně pracovníci ústavu řeší 25–30 výzkumných projektů, podporovaných jak domácími grantovými agenturami (Interní grantová agentura Ministerstva zdravotnictví, Grantová agentura České republiky a dalšími), tak mezinárodními projekty (Projekt COST, 6. rámcový projekt Evropské unie aj.). Od roku 2000 výzkumní pracovníci a lékaři z ústavu publikovali 511 originálních článků, z toho 162 (32 %) v zahraničních impaktovaných časopisech. Každoročně je v ústavu vyšetřeno téměř 45 000 pacientů na třech klinických odděleních – Klinické endokrinologie, v Centru pro diagnostiku a léčbu obezity a v Laboratoři funkční diagnostiky. Do každodenní klinické praxe byly zavedeny nové diagnostické přístupy, zahrnující stanovení nově objevených hormonů, clampové techniky a molekulárně biologické metody. Nedávná restrukturalizace a modernizace biochemických laboratoří a odběrového boxu umožnily využití moderních prostředků a zařízení, nabízejících široké spektrum biochemických a hormonálních vyšetření. Každodenně je v laboratořích vyšetřeno okolo 300 pacientů. To představuje ročně okolo půl milionu hormonálních a dalších biochemických vyšetření provedených v ústavu. Centrum pro diagnostiku a léčbu obezity, začleněné do ústavu v roce 2002, zajišťuje komplexní diagnostiku a léčbu obezity, se zaměřením na těžce obézní jedince a pacienty s vysokým rizikem kardiometabolických onemocnění. Ústav je zapojen do pregraduální výuky na lékařských fakultách, na přírodovědecké fakultě a také na Jihočeské univerzitě. Jak lékaři, tak ostatní výzkumní pracovníci významně přispívají k postgraduální výuce endokrinologie v rámci Subkatedry endokrinologie jako součásti Ústavu pro další vzdělání lékařů (IPVZ), sídlící v ústavu. Jak ústav, tak subkatedra získaly akreditaci pro obor endokrinologie od ministerstva zdravotnictví. Od začlenění Centra pro diagnostiku a léčbu obezity ústav nabízí jedinečný jednotýdenní výukový program pro specialisty v oboru obezitologie, organizovaný Českou obezitologickou společností. V nadcházejících letech očekáváme ještě těsnější spolupráci s Karlovou Univerzitou a s Akademií věd, které by se měly odrazit i v novém statutu ústavu.

**Klíčová slova:** Endokrinologický ústav Praha.

## SUMMARY

*Hainer V., Stárka L., Vondra K., Hampl R.: The Institute of Endocrinology Celebrates its 50th Anniversary. How is the Institute Poised for the Next 50 Years?*

This paper briefly describes the recent research, therapeutic and pedagogical activities of the Institute of Endocrinology in Prague, which will celebrate the 50th anniversary of its foundation in the beginning of 2007. Current research covers a broad spectrum of topics in endocrinology, which include thyroid and steroid hormone research, neuroendocrinology, immunoendocrinology, molecular endocrinology, endocrinology of aging as well as diabetes and obesity research. Not only clinical studies but also epidemiological and basic research studies are carried out at the institute. Each year approximately 25–30 research projects are conducted, financed both locally (Grant Agency of the Ministry of Health IGA, Grant Agency of the Czech Republic GAČR etc.) and by foreign agencies (COST project, 6th Framework program etc.). Since the year 2000, researchers and physicians from the institute have presented 511 papers, of which 162 (32%) were published in internationally impacted journals. Almost 45 000 patients are examined each year at the three clinical departments: the Department of Clinical Endocrinology, the Obesity Management Centre and the Department of Functional Diagnostics. New diagnostic strategies such as assays of recently discovered hormones, clamp techniques, and methods of molecular biology, have been introduced into the regular clinical practice. Recent modernization of the biochemical laboratories and sampling procedures has resulted in modern facilities which offer a broad spectrum of biochemical and hormonal assessments. About 300 patients undergo laboratory

investigations daily. Currently, more than half a million biochemical and hormonal assays per year are performed in the institute. The Obesity Management Centre, which was incorporated into the institute in 2002, provides a comprehensive obesity management program focused mainly on the treatment of severely obese patients and patients with high cardiometabolic risks. The institute is involved in pregraduate education at the Faculties of Medicine and at the Faculty of Science of the Charles University and at the University of Southern Bohemia. Both physicians and researchers of the institute contribute significantly to the postgraduate education in endocrinology as the institute is the seat of the Sub-Chair of Endocrinology of the Institute of the Postgraduate Education of Health Care Providers. Both the institute and the Endocrine Sub-Chair obtained the accreditation in endocrinology from the Ministry of Health. Since the acquisition of the Obesity Management Centre, the institute offers a unique one-week training program for obesity specialists organized by the Czech Society for the Study of Obesity. In the forthcoming years closer cooperation with Charles University and the Academy of Sciences is highly likely and should be reflected by a new legislative status of the Institute.

**Key words:** Institute of Endocrinology in Prague.

Ha.

*Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 183–188.*

V roce 2007 si připomínáme 50 let od založení Endokrinologického ústavu v Praze. Pro člověka je dnes věk padesáti let věkem zralosti a plné tvůrčí aktivity, kdy jedinec může uplatnit své znalosti a zkušenosti a zúročuje je tím, že je předává mladším a napomáhá rozvíjet jejich tvůrčí aktivitu. Dnes již neplatí jako za dob národního obrození, že padesátník je uctívaným velebným kmetem. Jak je to s Endokrinologickým ústavem jako „čerstvým“ padesátníkem? Je snad dnes ústav velebným kmetem chystajícím se do důchodu, nebo je tím aktivním padesátníkem? Jak se dočtete v článku o historii ústavu, dlouholeté zkušenosti v klinické praxi, ve výzkumu a v pedagogice přispěly k tomu, že ústav je dnes uznávanou institucí v endokrinologii, diabetologii a obezitologii, a to nejen u nás, ale i ve světě. Není to tedy tím, že je na české medicínské scéně kmetem, jenž slaví své padesátiny. Ústav je dnes uznáván proto, že ve zmíněných oborech nejen rozvíjí vlastní tvůrčí aktivitu, ale své zkušenosti a výsledky nezištně předává jako zkušený a osvědčený padesátník dalším institucím, lékařům a zdravotníkům ve prospěch současné medicíny.

## VĚDECKO-VÝZKUMNÁ ČINNOST

Co nového přineslo nastupující 21. století ve výzkumu na Endokrinologickém ústavu? Ústav řeší každým rokem 25–30 grantových úkolů, přidělovaných jak tuzemskými grantovými agenturami (Interní grantová agentura Ministerstva zdravotnictví, Grantová agentura České republiky, grantová agentura Ministerstva zemědělství), tak některými mezinárodními grantovými projekty (např. COST). V ústavu probíhá vědecká příprava v rámci interního i externího doktorandského studia pod vedením 11 zkušených školitelů. V současnosti je na ústavu do vědecké přípravy začleněno 15 lékařů a 7 absolventů přírodovědných oborů. V posledních letech úspěšně obhájilo titul Ph.D. 16 pracovníků ústavu, jejichž práce významně přispěla k rozvoji klinicko-experimentálních a molekulárně-endokrinologických metod. Pro studenty postgraduálního studia jsou společně s lékařskými fakultami organizovány již několik let semináře „Vybrané problémy endokrinologie a metabolismu“. Studentům tyto semináře poskytují neformální fórum, kde prezentují a diskutují výsledky svých studií za přítomnosti odborníka v daném oboru. Podílíme se i na řešení koncepčních a orga-

nizačních otázek postgraduálního doktorského studia v biomedicině (PDSB) v Koordinační radě pro PDSB pro Univerzitu Karlovu a Akademii věd (doc. K. Vondra).

Celkový počet publikací od roku 2000 činil 511 prací, z toho 162 (32 %) v zahraničních impaktovaných časopisech.

Ve vedení **Oddělení klinické endokrinologie** vystřídala V. Zamrazila v posledních 2 letech M. Dvořáková. Oddělení zůstává věrně hlavním výzkumným aktivitám v oblasti epidemiologie a tyreoidologie. Pod vedením V. Zamrazila pokračoval tradiční epidemiologický výzkum jodového deficitu. Doporučení vedoucí ke zlepšení příjmu jodu české populace podpořená Státním zdravotním ústavem a potravinářským průmyslem přinesla pozitivní výsledek. V roce 2002 bylo odstranění jodového deficitu v České republice uznáno Světovou zdravotnickou organizací. V oblasti klinického výzkumu je třeba zmínit studii M. Dvořákové, která se zabývala poprvé v České republice sonografickým měřením objemu štítné žlázy. V oblasti sonografie je třeba zmínit i studii Z. Nováka zaměřenou na retrobulbární prostor u Gravesovy–Basedowovy tyreotoxikózy. Za publikace v předních odborných časopisech věnované syndromu polycystických ovaríí, zejména ve vztahu k inzulínové rezistenci, byla v roce 2005 udělena J. Vrbíkové cena České endokrinologické společnosti. K. Zajíčková a I. Žofková se věnují vztahu genových polymorfizmů k metabolismu skeletu, kostní denzitě a rozvoji obezity.

**Oddělení molekulární endokrinologie** se pod vedením B. Bendlové soustředilo na dva tematické okruhy. Jsou zde zkoumány jednak genetické příčiny komplexních civilizačních chorob, jako jsou diabetes mellitus 2. typu, obezita, hypertenze, syndrom polycystických ovaríí a osteoporóza. Druhým nosným tématem je molekulárně-genetická diagnostika a predikce medulárního karcinomu štítné žlázy, která se nyní rozšiřuje i o studium genetických příčin papilárního a folikulárního karcinomu štítné žlázy. Výsledky této práce jsou navrhovány na cenu Učené společnosti ČR pro mladé vědce právě v letošním roce. Oddělení molekulární endokrinologie se zapojilo i do dvou mezinárodních projektů COST zabývajících se molekulárně-genetickými aspekty inzulínové rezistence a diabetes mellitus 2. typu. B. Bendlová byla členem řídicího výboru těchto projektů a byla pověřena organizačním vedením Genetické skupiny. Od roku 2000 najdeme ve výstupech této skupiny 23 prací v impaktovaných časopisech.

Nejrozsáhlejší vědecko-výzkumnou činností se v posledních pěti letech může pochlubit **Oddělení steroidních hormonů**, které pod vedením R. Hampla rozvíjí tradici zakladatele tohoto oddělení a dlouholetého ředitele EÚ L. Stárky. Mezi řešenými úkoly najdeme metodické studie týkající se stanovení steroidů a přírodních fytoestrogenů v tělesných tekutinách (plazmě, slinách, moči ale i v ejakulátu) a stanovení aktivit steroidní sulfatázy a sulfuryltransferázy. Mezi metodické studie patří i syntéza nových hapténových derivátů dehydroepiandrosteronu ve spolupráci s Ústavem organické chemie a biochemie Akademie věd. V klinických studiích se oddělení zabývá úlohou 7- a 16-hydroxylovaných metabolitů dehydroepiandrosteronu, rolí SHBG, testosteronu a allopregnanolonu u tyreopatií a endokrinologií stárnutí. Publikacně i co do počtu řešených grantů je neaktivnější M. Hill, který ve spolupráci s porodníky významně přispěl k poznání úlohy vybraných steroidů v graviditě a při spuštění porodu. Zcela novým polem zájmu se stávají neurosteroidy a jejich úloha při Alzheimerově chorobě, vaskulární demenci, v těhotenství a při porodu a sexuální aktivitě. Za tyto práce obdržela v roce 2004 M. Bičíková se svými spolupracovníky cenu Aloise Alzheimerova a Mgr. M. Havlíková v roce 2002 cenu Učené společnosti ČR. Oddělení se dlouhodobě zabývá úlohou neurosteroidů při odvykání adikce na alkohol a tabák. Spolu s klinickými pracovišti se zabývá otázkou mužského ekvivalentu syndromu polycystických ovarií. Vedle výzkumné činnosti oddělení ročně provádí kolem 30 000 stanovení běžných i méně běžných steroidů pro domácí i mimoústavní lékaře.

**Oddělení proteohormonů a biofaktorů** pod vedením R. Bílka se věnovalo zavádění nových metod, jako jsou spektrofotometrické stanovení jodu v biologickém materiálu, polarografické stanovení jodu v kuchyňské soli a stanovení fluoru v moči a fluorometrické stanovení selenu. Stanovení jodu vypracované na EÚ bylo převzato řadou pracovišť a monitorování saturace populace jodem přispělo k eliminaci jodového deficitu v České republice. V současnosti je pracovištěm monitorován selenový deficit u vybraných populačních skupin. K objasnění biologické úlohy TRH-like peptidů v nádorových tkáních se používá i proteomických technik včetně počítačového modelování peptidových a proteinových struktur.

**Laboratoř klinické a experimentální neuroendokrinologie** je po dobu své existence spjata se jménem J. Nedvíkové. Laboratoř se v poslední době zaměřila na studium úlohy hormonů, resp. cytokinů tukové tkáně (leptinu, rezistinu, adiponektinu, TNF-alfa) a hormonů gastrointestinálního traktu (ghrelinu, obestatinu) v regulaci energetické rovnováhy, a to jak za fyziologických podmínek, tak u mentální anorexie a v poslední době i u obezity. Je studován vztah těchto hormonů k adrenergickému a dopaminergickému systému a k hypotalamo-hypofýzo-tyreoidální ose. Významným počinem pracoviště bylo zavedení mikrodialyzační techniky pro odběr vybraných molekul ze tkání (především z tukové tkáně) v průběhu dynamických studií. Tyto studie umožňují sledovat *in vivo* nejenom metabolismus tukové tkáně, ale i roli některých hormonů tukové tkáně regulujících energetickou rovnováhu. Separace malých peptidů, jako je leptin a rezistin, pomocí této techniky je celosvětovou prioritou laboratoře.

Centrem výzkumného zájmu **Oddělení klinické imunoendokrinologie** jsou samozřejmě autoimunitní endokrinopatie. Laboratoř imunoendokrinologie je v České republice ojedinelá a poskytuje nejširší spektrum vyšetření v oboru, které jí umožňuje shromažďovat rozsáhlý klinický materiál. Zvýšená pozornost je věnována studiu autoimunitní tyreoiditidy a diabetes mellitus 1. typu a vzájemným vztahům autoimunity u těchto onemocnění. V poslední době je věnována pozornost vztahu infekce *Helicobacter pylori* k autoimunitní tyreoiditidě. U autoimunitních endokrinopatií je zkoumána exprese HLA antigenu a koncentrace sérových cytokinů. Ve spolupráci s Oddělením steroidních hormonů je sledována i imunomodulační úloha derivátů dehydroepiandrosteronu. Slizniční imunita je studována s ohledem na fertilitu.

**Laboratoř funkční diagnostiky** pod vedením K. Vondry zavedla v posledních 5 letech progresivní referenční kliniko-experimentální metody využívané prakticky všemi týmy výzkumu při řešení grantových projektů či farmakologických studií. Není proto divu, že se jen od roku 2000 laboratoř podílela na publikaci 21 impaktovaných článků citovaných v PubMed. V laboratoři byly postupně zavedeny infuzní techniky, nepřímá kalorimetrie, metody k posouzení účinnosti inzulínu *in vivo* (euglykemický clamp, inzulínový toleranční test) a argininový test sekrece inzulínu a glukagonu. Byly rozšířeny a standardizovány testy využívané při diagnostice poruch růstu a při ověřování funkce regulačních os hypotalamus – hypofýza – štítná žláza/ nadledviny/gonády. Ve spolupráci s J. Nedvíkovou bylo zahájeno systematické provádění mikrodialýzy podkožní tukové tkáně jak v klidových podmínkách, tak po stimulačních podnětech zahrnujících fyzickou aktivitu, nutriční podněty či farmaka. M. Kunešová se zase podílela na zavedení bioptických odběrů podkožní tukové tkáně.

**Oddělení klinické biochemie a hematologie** je nejmladším oddělením ústavu, které vzniklo v roce 2003 a pod vedením P. Hoskovcové slouží především k zajištění rutinní laboratorní diagnostiky. Nicméně poskytuje také laboratorní zázemí pro mnohé výzkumné úkoly řešené v ústavu. Mezi nejrozsáhlejší projekty patří epidemiologické studie výskytu tyreopatií a metabolického syndromu ve vybraných oblastech České republiky. V posledních třech letech převzalo do rutinního provozu část metodik prováděných doposud ve specializovaných laboratořích, kde se díky tomu uvolnily kapacity na vývoj nových metod pro výzkumné účely. Modernizován byl odběrový blok s přehlednou registrací pacientů, což vytváří pro pacienta komfortnější prostředí. Provoz byl diferencován od příjmové části, přes preanalytické zpracování a distribuci biologického materiálu s využitím čárových kódů, což umožňuje počítačové propojení dat z klinické části ústavu přes odběrovou místnost až po laboratorní komplement. Využití automatického biochemického analyzátoru a imunoanalyzátoru umožňuje promptní zpracování podstatné části analýz, takže lékař obdrží většinu požadovaných výsledků ve svém počítači ještě v den odběru. Za jeden den oddělení provede pestré spektrum analýz až u 300 pacientů, přičemž současně rozdělí alikvoty pro specializovaná vyšetření v ostatních laboratořích ústavu. Ročně se v současnosti provede na ústavu přes půl milionu analýz a z těch se 350 000 uskuteční na Oddělení klinické biochemie. Bez provedené přestavby a racionalizace provozu by nebylo možné narůstající objem požadavků na vyšetření zvládnout.

**Centrum pro diagnostiku a léčbu obezity** se stalo součástí ústavu v roce 2002. Centrum navazuje na vědecko-výzkumné aktivity obezitologické jednotky, která byla založena V. Hainerem na IV. interní klinice 1. lékařské fakulty UK a VFN již v roce 1988. Centrum pod vedením M. Kunešové iniciovalo v České republice ojedinělé epidemiologické šetření obezity a životního stylu u kvótního vzorku české populace. V rámci tohoto šetření byly mj. hodnoceny i souvislosti jídelního chování posuzovaného trojsložkovým dotazníkem jídelních zvyklostí Eating Inventory (EI) s antropometrickými, zdravotními a sociálními charakteristikami české populace. Byla dokončena studie o vlivu časně postnatální výživy na antropometrické a hormonální charakteristiky dětí v 10 letech. V nedávné studii byl hodnocen vliv standardizovaného krátkodobého redukčního režimu na antropometrické, psychobehaviorální, metabolické a hormonální ukazatele. V současnosti jsou zkoumány genetické, psychobehaviorální, nutriční a hormonální prediktory jak hmotnostního poklesu, tak jeho dlouhodobého udržení. Byla zkoumána rovněž úloha vybraných nutričních faktorů (n-3 polynenasycených mastných kyselin, vitamínu A, různých forem vápníku) na úspěšnost redukčního režimu. V řadě studií byl analyzován vliv redukčního režimu na složení mastných kyselin v plazmě a tukové tkáni. Vedle tuzemských projektů se obezitologie podílí na mezinárodním projektu DIOGenes (součást 6. rámcového programu), kde je M. Kunešová spolu s V. Štichem ze 3. LF UK zodpovědnou řešitelkou za Českou republiku. Varovný nárůst dětské obezity a boj proti ní je klíčovým tématem nadnárodního grantu Evropské unie a Norska, o který ústav usiluje.

### DIAGNOSTICKO-LÉČEBNÁ ČINNOST

Ústav dnes tvoří komplexní diagnosticko-terapeutickou základnu pro onemocnění žláz s vnitřní sekrecí včetně diabetes mellitus, a pro obezity a osteopatie. Ročně projde ambulancemi ústavu na 45 000 pacientů. **Oddělení klinické endokrinologie** poskytuje pacientům vedle biochemického vyšetření široké spektrum hormonálních vyšetření, cílená sonografická vyšetření, diagnostické aspirační punkce štítné žlázy tenkou jehlou a ultrazvuková vyšetření kostní denzity. Funkční testy včetně specializovaných vyšetření, jako jsou clampové techniky, umožňuje realizovat **Laboratoř funkční diagnostiky**. V ústavu vzniklo unikátní propojení **Centra pro léčbu růstovým hormonem u dětí s Centrem pro léčbu růstovým hormonem pro dospělé pacienty**, které zde bylo založeno v roce 2001. **Centrum pro diagnostiku a léčbu obezity** se podařilo inkorporovat do Endokrinologického ústavu v roce 2002. Toto centrum se v diagnosticko-léčebné činnosti věnuje především pacientům s těžkým stupněm obezity nebo pacientům s obezitou provázenou závažnými zdravotními komplikacemi. V obezitologickém centru pracují vedle lékařů dietní sestra a nutriční poradkyně, psycholog a specializované sestry. Centrum je navázáno na Centrum bariatrické chirurgie ISCARE. Komplexní obezitologické vyšetření zahrnuje: standardní interní vyšetření s cílenou anamnézou, specializované laboratorní vyšetření zaměřené na zdravotní rizika obezity, antropometrii, vyšetření tělesného složení pomocí bipedální – bimanuální bioimpedance, počítačové vyhodnocení záznamu jídelníčku, vyhodnocení

psychologických dotazníků a vyšetření klidového energetického výdeje. Vyšetření duální rentgenovou absorpciometrií (DEXA) se zatím provádí pouze u pacientů zařazených ve výzkumných úkolech. Konziliární a superkonziliární činnost je poskytována pracovníky ústavu na několika pracovištích: v Ústavu pro péči o matku a dítě (N. Kaňová), v Insititutu klinické a experimentální medicíny (J. Vrbíková), v nemocnici Na Homolce (M. Dvořáková) a v Centru obezitologie ISCARE (M. Kunešová).

### PEDAGOGICKÁ ČINNOST

Ústav se podílí jak na pregraduální, tak na postgraduální výuce lékařů. Pracovníci fakulty se účastní výuky na lékařských fakultách Univerzity Karlovy, na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy a na Jihočeské a Pardubické univerzitě. Subkatedra endokrinologie IPVZ pod vedením V. Zamrazilá zajišťuje postgraduální přípravu lékařů v endokrinologii. Subkatedra organizuje jak předatestační kurzy v endokrinologii, tak praktická školení atestantů. V lednu 2006 byla Endokrinologickému ústavu přidělena Ministerstvem zdravotnictví akreditace 2. stupně v oboru endokrinologie na 10 let. V návaznosti pak akreditaci obdržela Subkatedra endokrinologie při IPVZ pod vedením V. Zamrazilá.

V ústavu rovněž probíhá dvakrát ročně týdenní postgraduální školení v obezitologii, na němž se podílí dvacet lektorů. Cílem školení je poskytnout účastníkům ucelené znalosti v oblasti etiopatogeneze, diagnostiky a léčby obezity. Toto dnes již tradiční školení v obezitologii organizované naším obezitologickým pracovištěm pod patronací České obezitologické společnosti ČLS JEP již 12 let nemá zatím svým komplexním pojetím obdobu v žádné jiné evropské zemi. V posledních dvou letech obdrželo toto školení od Evropské asociace pro studium obezity certifikát SCOPE. Pracovníci ústavu se účastní postgraduální výchovy i v rámci dalších oborů, zejména v diabetologii, klinické biochemii, imunologii, vnitřním lékařství, lékařské výživě, při přípravě praktických lékařů a dalších. Ústav je významně zapojen i do celoživotního postgraduálního vzdělávání organizovaného Lékařskou komorou.

Obdobně je Endokrinologický ústav zapojen i do pregraduální výchovy studentů medicíny na všech 3 pražských lékařských fakultách. Pracovníci ústavu zde habilitovali či byli jmenováni profesory: 1. lékařská fakulta: doc. V. Hainer, doc. I. Šterzl, doc. M. Kunešová; 2. lékařská fakulta: prof. J. Němec, prof. V. Zamrazil, doc. P. Vlček, doc. K. Vondra; 3. lékařská fakulta: prof. L. Stárka, prof. I. Žofková. Výuky se účastníme i na nelékařských fakultách – např. na přírodovědecké – profesorem zde byl jmenován R. Hampl, z mimopražských fakult dominuje výuka biochemie a příbuzných disciplín na Jihočeské Univerzitě v Českých Budějovicích, kde habilitoval doc. R. Bílek. Podílíme se i na výuce i ve Východočeské Univerzitě v Pardubicích.

### ZAHRANIČNÍ SPOLUPRÁCE

Oddělení ústavu spolupracují s řadou zahraničních pracovišť zaměřených na obor endokrinologie, obezitologie

a metabolismu. Mezi spolupracujícími pracovišti Oddělení steroidních hormonů jsou Endokrinologický ústav v Lubochni (Z. Putz, P. Vaňuga), Conservatoire Nat. Arts Metiers v Paříži, Laboratoire de Biologie v Paříži (R. Morfin), a lékařská fakulta v Seattlu (J. Amory), Onkologický ústav v Budapešti (I. Számel), nemocnice ve švédské Umea (T. Backstrom) a Lékařská akademie v Poznani (A. Majewská). Laboratoř klinické a experimentální neuroendokrinologie spolupracuje s Pediatric and Reproductive Endocrinology Branch NIH v Bethesda (K. Pacák). Oddělení klinické imunoendokrinologie spolupracuje s University of Alabama (P. Bucy, J. Mestecky), Univerzitou v Hamburku (A. Kromminga) a Karolinska Institute ve Stockholmu (V. Stejskal). Obezitologové publikují společné studie s University of Pennsylvania ve Filadelfii (A. Stunkard) a s Hotel Dieu v Paříži (F. Bellisle). Oddělení molekulární endokrinologie řešilo společné projekty s Laboratoří molekulární genetiky drážďanské Technické univerzity (P. Schwarz, T. Selisko, J. Schulze). V roce 2006 obdržely stipendium prostřednictvím amerického programu Endocrine Society Scholar Program dvě mladé pracovnice ústavu: K. Zajíčková pracovala v Calcium Research Laboratory Royal Victoria Hospital, McGill University v Montrealu a S. Stanická doposud studuje problematiku inzulínorezistence v endokrinologickém pracovišti Northwestern Medical School v Chicagu (A. E. Dunaif). K prohloubení spolupráce s pracovišti na americkém kontinentu v oblasti molekulární genetiky bezpochyby přispěje i současný pobyt J. Včeláka v Centre hospitalier de l'Université de Montreal (P. Hamet).

#### ÚČAST NA PRÁCI ODBORNÝCH SPOLEČNOSTÍ A REDAKČNÍCH RAD

Pracovníci ústavu jsou členy výborů řady odborných společností. Ve výboru České endokrinologické společnosti ČLS JEP ústav reprezentují V. Zamrazil, M. Dvořáková, R. Hampl a J. Vrbíková. I. Šterzl je členem Sněmu AV ČR a členem vědecké rady MZ ČR. Ve výboru České obezitologické společnosti ČLS JEP jsou M. Kunešová (předsedkyně) a V. Hainer. V roce 2004 bylo M. Kunešovou iniciováno založení Národní rady pro obezitu, jejíž pracovní skupina připravuje Národní akční plán prevence a léčby obezity. V. Hainer v roce 2006 převzal funkci prezidenta European Association for the Study of Obesity (EASO). Do roku 2006 pracoval v EASO jako president-elect a předseda Obesity Management Task Force. Z této funkce inicioval vypracování Evropských doporučení pro léčbu obezity v primární péči („Management of Obesity in Adults: Project for Primary Care“. *Int. J. Obes.* 2004; 28, s. S226-S231) a v současnosti společně s bariatrickými chirurgy Evropská doporučení pro chirurgickou léčbu těžké obezity.

Pracovníci ústavu jsou členy redakčních rad odborných časopisů jak v České republice: *Diab. Metab. Endocrinol. Výživa* (L. Stárka, V. Hainer), *Praktický lékař* (V. Hainer), *Kasuistiky v diabetologii* (K. Vondra), tak v zahraničí konkrétně v *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. a Endocr. Regul.* (L. Stárka), *Exp. Clin. Endocrinol. Diab.* (B. Bendlová), *Endokrynol. Otol.* (V. Hainer).

#### PODÍL NA ORGANIZACI VÝZNAMNÝCH KONGRESŮ A ODBORNÝCH KONFERENCÍ

Endokrinologický ústav se podílí na organizování Endokrinologických dnů konaných každý rok střídavě v České a Slovenské republice, Česko-slovenských Imunoanalytických dnů a Konference o imunoanalýze v Lubochni, postgraduálního výukového semináře o endokrinologii v Hradci Králové a konferenci Obezitologie. V roce 2002 B. Bendlová se svými kolegy uspořádala v rámci akce COST B17 pracovní setkání „Genetic aspects of type 2 diabetes mellitus in relation to ageing-induced changes in insulin action and secretion“, kterého se zúčastnilo více než 30 nejvýznamnějších evropských odborníků na problematiku genetiky diabetes mellitus 2. typu a obezity. V roce 2004 se podílel ústav významně na úspěšném průběhu 13. evropského kongresu o obezitě, který se konal za účasti více než 2500 vědců z celého světa v Praze. Prezidentem kongresu byl V. Hainer spolu s J. Kopeckým z Akademie věd, přičemž v lokálním vědeckém výboru byli 4 zástupci Endokrinologického ústavu.

Řada pracovníků ústavu byla za své vědecké, pedagogické a další aktivity oceněna na nejrůznějších fórech. Potěšitelné je, že jsou oceňováni i ti nejmladší pracovníci (I. Dostálová – Česká hlava 2004, Š. Dvořáková – Cena endokrinologické společnosti 2005, návrh na cenu Učené společnosti 2006, diplomantka V. Sýkorová – nejlepší poster Brněnských onkologických dnů 2006), což je dobrým příslibem do budoucnosti.

Monografie Všeobecná a klinická endokrinologie (ed. Kreze, Langer, Klimeš, Stárka, Payer, Michálek) Bratislava 2004 byla oceněna cenou Slovenského literárního fondu.

#### ÚKOLY DO BUDOUCNA

Ústav v novém tisíciletí zatím vždy docílil v rozpočtu vyrovnané či lehce pozitivní bilance. Na příjmech ústavu se v posledních letech podílel zisk od pojišťoven 60–70 % a příjem z grantových úkolů činil 30–40 %. Podařilo se udržet vyrovnaný rozpočet i v posledních 2 letech, kdy ústav neobdržel institucionální prostředky ve formě výzkumného záměru. Výzvou do budoucnosti je bezpochyby zamyšlení se nad statutem ústavů přímo řízených ministerstvem. Na rozdíl od fakultních nemocnic tvoří v těchto ústavech podstatnou část zdrojů prostředky výzkumu. Tyto ústavy jsou sto díky své specializaci a širokému vědecko-výzkumnému zázemí řešit celospolečenské projekty v diagnostice, léčbě a prevenci civilizačních chorob. K realizaci těchto široce pojatých projektů jsou však nezbytné sdružené institucionální prostředky, jako to bývá například v Národních ústavech zdraví v některých evropských zemích či v USA. Těsná spolupráce s univerzitními pracovišti a s pracovišti Akademie věd nabízí další příležitost pro řešení celospolečenských úkolů v prevenci a léčbě, pro něž poskytují tyto ústavy jedinečné personální a materiální zázemí. Jak již bylo zmíněno, Endokrinologický ústav úzce spolupracuje jak ve vědeckovýzkumné, tak v pedagogické činnosti s lékařskými fakultami UK, Přírodovědeckou fakultou UK a Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích. Potřeba ještě těsnější spolupráce s lékařskými fakultami vedla k přípravě návrhu smluv s 1. a 3. lékařskou

fakultou UK o ustavení společného pracoviště Endokrinologického ústavu s těmito pracovišti. Vzhledem k „proměnlivé situaci“ na Ministerstvu zdravotnictví ČR se tyto smlouvy zatím nerealizovaly. I když by možná úlohu EÚ lépe odráželo ustavení jednoho pracoviště Univerzity Karlovy, považovali bychom i definitivní vyhlášení společných pracovišť s 1. a 3. LF UK za smysluplné.

Za významný úkol do budoucna považujeme i vytvoření širšího odborného záběru ústavu v klinické endokrinologii (neuroendokrinologie, reprodukční endokrinologie) a omlazení pracovníků ve vedoucích funkcích, jakož i další zapojení klinické skupiny do výzkumu specializovaných oddělení.

## Chvála Endokrinologického ústavu

Marek J.

III. interní klinika 1. LF UK a VFN, Praha

Slavíme padesátiny Endokrinologického ústavu v Praze. Možná, že je ústav o něco málo starší, byl počat vládním usnesením z 10. července 1956 a 1. ledna 1957, kdy oficiálně obdržel „rodný list“ – statut rezortního výzkumného ústavu. Jako Výzkumný ústav endokrinologický měl již 69 zaměstnanců pracujících tehdy stejně tak jako nyní – v historické budově u Voršilek. Padesátiny – je to málo nebo mnoho? Rozhodně je to čas vhodný pro určité bilancování. A Endokrinologický ústav může bilancovat s velkou hrdosť. Má za sebou obrovskou spoustu dobře vykonané práce – výzkumné, zdravotnické, pedagogické. A přitom nebyl vůbec hýčkané „dítě“! Projevilo se to markantně v době Husákovské normalizace, kdy se po smrti doc. Karla Šilinka po Praze intenzivně sháněl nový přednost, který potřeboval mít pouze jednu vlastnost: Být členem KSČ. Nesehnal se. V ústavu endokrinologové se stranicou legitimací vůbec chyběli. Pochopitelně se musel tento soudružský handicap projevit ... Ale vždyť i za některých ministrů v době nedávno minulé byl osud ústavu spojován s otázkami!

Vraťme se k významu ústavu. Je zcela nezpochybnitelný: Žádný endokrinolog v České republice nemůže vstoupit do svého oboru jinak než prostřednictvím Endokrinologického ústavu v Praze. Zde musí absolvovat povinnou praxi, sem chodí na semináře a zde je také vyzkoušen, je mu pográtováno a z budovy Voršilského kláštera je tak vpuštěn do praktického života. Bylo tomu tak dříve, je tomu tak nyní a Endokrinologická společnost se zasazuje o to, aby tomu bylo i nadále. Jistě právem. Endokrinologický ústav spojuje velký vědecko-výzkumný potenciál ve všech oborech endokrinologie s bohatou endokrinologickou ambulancí, kterou již prošlo přes 100 000 nemocných! Tradičně je pěstována samozřejmě tyreoidologie a likvidace endemické strumy v České republice je nepochybně zásluhou ústavu. Světově známé jsou práce z oblasti steroidních hormonů, molekulární genetiky, reprodukční endokrinologie, imunoendokrinolo-

gie, neuroendokrinologie, kalciového metabolismu, vztahy endokrinologie a diabetologie a mnoho dalších. Příchodem doc. V. Hainera jako ředitele ústavu obohatila ústav obezitologie. Považuji to za nesmírně šťastný krok. Jsem totiž přesvědčen, že za problematikou obezity stojí převážně regulační poruchy hormonální povahy, ať již v tukové tkáni nebo mozku. A co jiného je endokrinologie než nauka o fungujících nebo nefungujících regulacích?

Českou endokrinologii si nelze bez Endokrinologického ústavu představit. Tím spíše je nutné při slavném výročí, jako je toto, všem pracovníkům Endokrinologického ústavu vřele poděkovat. Poděkovat za jejich vytrvalou práci a za to, že tak úspěšně šíří slávu české endokrinologie. Musím jim také poděkovat za všechny endokrinology, kteří byli v ústavu vyškoleni a připraveni k atestacím. Poděkovat i za všechny čtenáře monografií a knih, které z Endokrinologického ústavu vycházejí. Navíc se musím připojit s poděkováním Endokrinologickému ústavu za Českou endokrinologickou společnost. Řada pracovníků Endokrinologického ústavu se velmi živě podílela či podílí na práci výboru, ať prof. L. Stárka, prof. V. Zamrazil, prof. J. Němec, prof. R. Hampl, B. Kalvachová, M. Dvořáková nebo J. Vrbíková. A všichni ti další, nejmenovaní, sice ve výboru nezasedají, ale vycházejí vždy snahám Endokrinologické společnosti vstříc a s velkým pochopením.

A co bych Endokrinologickému ústavu chtěl k tomuto výročí přát? Aby se jeho existence vždycky setkávala s pochopením a všemožnou podporou. Aby všichni, kteří v něm pracují, neztráceli sílu a odvahu při překonávání veškerých překážek a nesnází. Aby se jim práce dařila. Aby obohatili naši endokrinologii spoustou nových objevů. Aby dál vychovávali vynikající nové endokrinology. Aby napsali ještě mnoho endokrinologických monografií a učebnic. A aby všichni v Ústavu byli spokojeni a chodili do práce rádi a s radostí.



## PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

## Půl století existence Endokrinologického ústavu

Stárka L.

*Endokrinologický ústav, Praha*

## SOUHRN

Při příležitosti 50. výročí založení Endokrinologického ústavu v Praze je stručně načrtnuta jeho historie. Prvá léta jeho existence jsou svázána se jménem zakladatele ústavu doc. MUDr. Karla Šilinka, DrSc., který provedl na začátku 50. let minulého století impozantní epidemiologický průzkum jodového deficitu v Čechách a na Moravě a docílil zřízení ústavu k 1. lednu 1957. Předmětem jeho zájmu nebyla jen štítná žláza, ale také využití radioizotopů v medicíně, enzymologie, steroidy a kybernetika. Ústav přežil bouřlivou druhou polovinu 20. století a následovníci K. Šilinka zavedli do výzkumných programů ústavu a také do léčebné péče endokrinologickou imunologii, pediatrickou endokrinologii, molekulární biologii, neuroendokrinologii a bohaté využití dynamických testů, cytologie a zobrazovacích metod v léčebné péči, která je v současnosti věnována více než 150 000 registrovaných pacientů.

**Klíčová slova:** 50. výročí Endokrinologického ústavu v Praze.

## SUMMARY

*Stárka L.: Half Century of the Continuation of the Institute of Endocrinology in Prague*

At the occasion of the 50th anniversary of its foundation, the short history of the Institute of Endocrinology in Prague is outlined. The early years were connected with its founder, Prof. As. MUDr. Karel Šilink, DrSc., who carried out an imposing epidemiological survey of iodine deficit in the Czech Republic at the beginning of fifties and who founded the institute on 1. 1. 1957. Not only the thyroid gland, but also the use of radioisotopes, enzymology, steroid hormones and cybernetics were the aims of his interest. The Institute survived the turbulent events of the second half of the 20th century and the successors of K. Šilink introduced also endocrine immunology, paediatric endocrinology, molecular biology, neuroendocrinology and obesitology into the normal program of research and health care, which is nowadays applied to over 150 000 patients.

**Key words:** 50th anniversary of foundation of the Institute of Endocrinology in Prague.

St.

*Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 189–192.*

**E**ndokrinologický ústav vzpomene začátkem roku 2007 svého půlstoletého trvání – byl totiž založen vládním usnesením ze dne 10. července 1956 a zřízen byl k 1. lednu 1957 jako Výzkumný ústav endokrinologický. Jeho zakladatelem a prvním ředitelem byl Karel Šilink.

Vládní usnesení nezřizovalo nějaký nový útvar, bylo jen administrativně–organizačním opatřením, kterým již existující zdravotnické zařízení zařazoval do sítě tehdejší vědecko–výzkumné základny ministerstva zdravotnictví. Ústav měl za sebou poměrně komplikovaný organizační vývoj a již v den svého administrativního narození měla 69 zaměstnanců a stálé sídlo na Národní třídě v části prostor o výměře asi 2500 m<sup>2</sup> kláštera sv. Voršily.

Historie ústavu začíná již v době Šilinkova působení na klinice prof. Josefa Pelnáře, jehož asistentem Šilink byl v letech 1935–1937. Již v té době vypracoval Šilink plán endokrinologického průzkumu zaměřený na průkaz jodového deficitu u nás a na cesty k jeho odstranění. Řada vyspělých zemí a WHO k tomuto kroku dospěla až o půl století později.

Šilink za války, v roce 1942 založil Sociální zdravotnickou poradnu pro nemoci žláz s vnitřní sekrecí, která soustředila několik později velmi významných osobností medicíny i vědy. Poradna s ambulantním provozem a laboratořemi fungovala i po skončení války, kdy se Šilink vrátil na Lékařskou fakultu UK a stal se zástupcem prof. Josefa Charváta na III. interní klinice. V roce 1946 byl Šilink pověřen protistrumovou komisí ministerstva zdravotnictví organizací oblastního průzkumu a asanací endemických tyreopatií v Čechách a na Moravě. Tohoto úkolu se zhostil výborně a pokračoval v něm i po postátnění zdravotnictví, kdy se z poradny stal Ústřední endokrinologický ústav. V té době ústav zmapoval velmi podrobně endemii strumy: při tom bylo v letech 1947–1975 vyšetřeno celkem 672 541 obyvatel v 2815 obcích v českých zemích. Podle metodického vzoru Šilinkova byla zahájena podobná akce v roce 1949 i na Slovensku a ve spolupráci s Poláky i v horských oblastech Sudet.

V roce 1951 Šilink využil možnosti výběru nového sídla ústavu. Zvolil si klášter na Národní třídě, ze kterého byly

předtím vyhnány sestry řádu sv. Voršily. Výhody i nevýhody této volby se staly osudem ústavu až do dnešních dnů. Již od počátku bylo toto řešení považováno za provizorium a současně s nastěhováním do klášterní budovy začal Šilink intenzivně pracovat na projektu velkolepé budovy pro moderní medicínský výzkumný ústav v Krči. Umístění zdravotnického zařízení a výzkumného pracoviště v historické klášterní budově dostavěné v roce 1676 přinášelo řadu provozních i kompetenčních problémů. Na užívání rozsáhlého objektu se podílely ještě další instituce a ačkoliv endokrinologie nevyužívala ani třetinu objektu, byla jeho správcem a zodpovídala za stav celé historické budovy, která byla udržována z prostředků zdravotnického rozpočtu.

Příliš silná individualita Šilinkova i řada jeho plánů (např. zřizování endokrinologických poraden, tzv. T stanic, kterých bylo v roce 1953 již 54) překračovala rámec interní kliniky, kterou posléze opustil. Ústřední endokrinologický ústav v té době ztratil nepříteli jasně definovanou samostatné postavení a stal se v roce 1954 endokrinologickým oddělením Fakultní nemocnice v Praze. Jeho dvacet pracovníků bylo rozmístěno asi na osmi různých místech Všeobecné nemocnice. Osudy Endokrinologického ústavu ještě před jeho zřízením jako rezortního ústavu byly velmi nejisté. V Charvátových Zápisích z deníků (1953–1958) je Šilink citován opakovaně v souvislosti se snahami zrušit jeho ústav, ale také proto, že odmítal přijmout státní cenu, na kterou byl navrhován.

Zřízení ústavu v čase, který Charvát eufemisticky označil za dobu, kdy se endokrinologie netěšila podpoře, lze považovat za nesmírný osobní úspěch Šilinkův. Neopíral se o podporu na základě stranické legitimace, ale byly to především jeho zásluhy o zdravotní stav obyvatelstva republiky. Nejenže vypracoval klinické, biochemické a statistické metody pro endokrinologické vyšetření velkých populačních souborů a zmapoval výskyt strumy a endemických tyreopatií a zavedl prevenci strumy hromadnou profylaxi jodového deficitu a úspěšně vedl svůj ústav, ale významně se podílel na úsilí o zřízení Ústavu experimentální endokrinologie SAV v Bratislavě. Šilinkovou představou bylo, aby i pražský ústav byl součástí systému vědeckých ústavů Akademie věd, ale příznivější pochopení ze strany ministra zdravotnictví než prezidia ČSAV způsobilo, že jeho ústav se stal součástí rezortní výzkumné základny.

K 1. lednu 1957 tedy skutečně nabyl ústav statusu rezortního výzkumného ústavu a pod názvem Výzkumný ústav endokrinologický existoval pak dalších 35 let, kdy došlo ke změně názvu na Endokrinologický ústav. Prvním krokem, který Šilink jako ředitel nového ústavu v rámci svých větších pravomocí udělal, bylo rozšíření laboratoří. Kromě již fungujících laboratoře klinické biochemie ihned zřídil oddělení experimentální biochemie, jehož součástí byla i laboratoř pro enzymologii a onkologii a laboratoř steroidní. Laboratoř organické chemie se zabývala přirozenými i syntetickými strumigeny. V době zřízení výzkumného ústavu již Šilinka opouštěl intenzivní zájem o strumu, protože úkol považoval v podstatě za vyřešený. I nadále sice pracovala na problému výtečně organizovaná skupina statistická, která zpracovávala výsledky dříve získané v terénu, ale ředitele v té době již více lákaly radioizotopy, které byly v ústavu zavedeny pro diagnostiku a léčbu tyreopatií již v roce 1951. Úroveň práce v klinicko-laboratorním radioisotopovém oddělení byla na výborné úrovni, a tak Šilink značnou část své energie

a invence namířil na zřízení lůžkového izotopového oddělení pro léčbu endokrinopatií, především tyreotoxikóz a karcinomu štítné žlázy. To se mu podařilo skutečně otevřít v motolské nemocnici. Lůžkové radioizotopové oddělení VÚE mělo od roku 1958 smluvní statut společného pracoviště VÚE a Nemocnice v Motole a prošlo jím ve svých začátcích řada medicínských osobností (např. prof. J. Blahoš, prof. E. Strouhal, prof. V. Zamrazil, prof. L. Valenta, doc. P. Vlček a další) a pod pozdějším vedením prof. J. Němce se stalo v 90. letech minulého století klinikou nukleární medicíny 2. LF UK. Již na začátku působnosti se stalo modelem pro později zřizovaná pracoviště nukleární medicíny.

Šilink měl značnou zálibu v exaktních vědách a zejména v matematice. To bylo také důvodem, proč se s intenzitou sobě vlastní ponořil do tajů kybernetiky, vědy tehdy zcela nové a také silně proskribované oficiálními místy. Pokoušel se na prvých počítačích modelovat různé biologické děje a transformovat své představy o regulačních pochodech a léčbě izotopy pomocí této novinky. Vystupoval také na některých mezinárodních setkáních o kybernetice a otec kybernetiky prof. N. Wiener patřil mezi jeho přátele a hosty v pražském ústavu.

Určité zlepšení pracovních podmínek v barokní budově bylo dosaženo vnitřní rekonstrukcí zahájenou v roce 1958 a trvající téměř tři roky. To dovolilo mírné rozšíření klinické činnosti a otevření gynekologicko-endokrinologické ordinace pod vedením spoluzakladatele české cytologické školy dr. F. Luksche. Rok 1958 měl zasáhnout i do personálního obsazení, protože tehdejšími prověrkami neprošli někteří vědečtí pracovníci.

Vnitřní úpravy měly být jen krátkodobým provizoriem, protože se vážně pracovalo na dalším projektu nové moderní budovy v Krčském areálu. Ta se nikdy nerealizovala, ačkoliv na ni byly vyčleněny rozpočtové finance a ústav byl pověřen vykoupením pozemků, na kterých stojí dnešní IKEM a na jehož výstavbu byly použity i prostředky určené na výstavbu Endokrinologického ústavu.

Uprostřed 60. let se uvolnila poněkud do té doby striktní omezení pro kontakt s cizinou a pro studijní výjezdy. Šilink se zúčastnil několika zahraničních kongresů, získal tam řadu přátel a byl pověřen organizací symposia o endemické strumě za účasti odborníků z 12 států (1964), pořádáním 4. kongresu o srovnávací endokrinologii v Karlových Varech v (1967) a 6. setkání Evropské tyreoidální asociace (ETA) v Praze v roce 1974, kterého se však již nedožil. V té době také vyjelo do zahraničí na delší studijní pobyt i několik dalších pracovníků ústavu. Tyto výjezdy pomohly rozjezdu moderní steroidní biochemie a cytologie štítné žlázy nejen v ústavu, ale i v celostátním měřítku.

Rušný rok 1968 byl v ústavu prožíván pod stínem znepokojivého nálezu na plicích doc. K. Šilinka, silného kuřáka, ale operace dopadla dobře, Šilink odjel na léčení do Vysokých Tater a pak na studijní pobyt do Švýcarska, kde experimentoval s obojživelníky, a přijel ve zdánlivě výborném stavu. Stále měl ještě mnoho zajímavých nápadů, ale chyběl mu již elán k jejich dotazení. Vlastní srpnové dny roku 1968 byly v ústavu značně dramatické, protože těsně pod okny ústavu byla stacionována tanková jednotka, hlídající prezidium ČSAV, a ústav zažil několik vpádů jejich osádek do budovy. Na podzim roku 1969 Šilink uleh s kostními metastázami karcinomu plic, podrobil se heroické operaci a žil pak

v motolském oddělení svého ústavu, odkud se pokoušel z lůžka ústav řídit až do své smrti v roce 1973, těsně před nedožitými pětadesátinami.

Po úmrtí ředitele byl pověřen zastupováním ředitele až do definitivního rozhodnutí nadřízeného orgánu dr. J. Pečený. Bohužel se tento nestandardní stav řízení ústavu protáhl na plných 7 let k nemalé škodě instituce. Dr. Pečený byl oblíbený endokrinolog–praktik s dobrosrdečnou povahou, který zejména vinou svého nedořešeného postavení ve vedení ústavu nemohl radikálněji řešit narůstající problémy. V době normalizace byla také silně postiženo personální zázemí ústavu proskripcí některých schopných pracovníků nebo emigrací a v ústavu byla dokonce zcela vymazána celá základní stranická organizace. To samozřejmě neposílilo postavení ústavu ani v očích ministerstva zdravotnictví ani v té době všemocných obvodních a městských stranických orgánů. Ústav také úporně hledal napojení na aktuální propagovaná témata výzkumu, ať již to byly gerontologické projekty, projekty ochrany pracovního prostředí a projekty kardiovaskulární. V té době byl ministerstvem zcela zprůhleděn jakýkoli mezinárodní styk, před srpnem 1968 poměrně slušně rozvinutý. Dokonce i cestování na východ se netěšilo valné podpoře. Ústav ještě částečně pokračoval ve výzkumné linii svého zakladatele, zlepšila se zejména diagnostika tyreopatií i jejich laboratorní výzkum a jmenovitě cytodagnostika punktátu štítné žlázy, nadále si udržoval standard výzkum v oblasti steroidních hormonů, ale prakticky úplně byl opuštěn epidemiologický výzkum štítné žlázy a jodového deficitu. Kdysi velmi progresivní radioisotopové oddělení, místo aby zachytilo nastupující éru radioimunologických analýz, obrátilo svou pozornost na stopové prvky ze skupiny lanthanidů. Byla to slepá ulička, která však pohltila značné investiční prostředky na úkor jiných úkolů ústavu. Zcela ztracena byla pozice v počítačovém světě a v lékařské kybernetice.

Koncem 70. let byla situace ústavu předmětem snahy vědecké rady ministerstva zdravotnictví vyvést jej ze stagnace, ve které se odrážel ovšem stav celé tehdejší společnosti. Ale ani návrhy spojit ústav personální unií s III. internou FVL UK nebo řešit vedení ústavu neendokrinologem nebyly realizovány. Nakonec byl dr. Pečený jmenován v roce 1980 definitivně ředitelem. V té době však již trpěl vážnou a horšící se nemocí, která později jeho zdravotní stav svázala s dialyzačním programem, který v oněch letech kritického nedostatku umělých ledvin mu ani nemohl poskytnout potřebnou pomoc.

V roce 1982 proběhla v ústavu pravidelná prověrka hospodaření a činnosti. Její verdikt byl velmi kritický, i když objektivní. Absolutoria se dostalo některým laboratorním a motolskému oddělení, ostatní v hodnocení propadli. Podle závěrů revizní zprávy se měla v budoucnosti změnit i celková koncepce ústavu. Byla zřízena komise MZ v čele s doc. J. Rybku, která doporučila, aby vedle endokrinologie se stal ústav výzkumným pracovištěm i v oblasti metabolických onemocnění, zejména pak diabetes mellitus. Protože zdravotní stav dr. Pečeného se rapidně horšil, rozhodlo MZ o jeho uvolnění z funkce k 30. červnu 1983, necelé 3 měsíce před jeho skonek těsně před nedožitými 65. narozeninami.

Česká endokrinologie nikdy neoplývala odborníky se stranickou legitimací, a tak byl do čela ústavu postaven již třetí nestraník, MUDr. RNDr. Luboslav Stárka, DrSc., tentokrát už ani ne jako zastupující ředitel, ale oficiálně jen jako pracovník pověřený vedením ústavu.

Bylo třeba přijmout řadu opatření, prosadit kromě pravidelné vnitřní organizace a výuky i omlazení zaměstnaneckého kolektivu včetně vedoucích míst a zajistit personálně nově se rozvíjející tematiku diabetologickou. Přijetím celé plejády mladých pracovníků a aspirantů se výrazně oživila výzkumná činnost, stabilního řádu nabyla i léčebná péče pod vedením dr. V. Zamrazil. Svě místo jak v diabetologii, tak v endokrinologii si ústav postupně opět upevnil, ať již aktivitou nových členů ve výborech příslušných společností, přesunem vedení problémové komise opět do rukou ústavu, stejně jako pozicí v administrativě státních stěžejních výzkumných úkolů a v koordinaci endokrinologického úkolu RVHP. Výrazně se zlepšilo přístrojové vybavení ústavu z investičních zdrojů pro výzkum. Zahájena byla také další rekonstrukce ústavu, ale současně se oživila snaha o nové sídlo v Krči. Po rozsáhlých úpravách okolí ústavu a jeho pláště v souvislosti s rekonstrukcí sousedícího Národního divadla a výstavbou Nové scény se totiž začal nový tlak na převedení budovy kláštera do rukou ministerstva kultury. Přes tyto obtíže zkvalitnila výzkumná činnost a zintenzivněla publikační aktivita, rozsah výzkumu byl rozšířen i na endokrinní aspekty diabetologie. V roce 1987 byl jmenován ředitelem ústavu MUDr. Karel Vondra, DrSc., který v započatém trendu důsledně pokračoval, ujal se realizace dalších vnitřních úprav pro klinický provoz a zajištění výzkumu zejména v oblasti diabetologie.

Podobně jako srpen 1968, tak i listopad 1989 prožíval ústav v bezprostředním kontaktu s událostmi, už díky své poloze na Národní třídě, a také proto, že několik jeho pracovníků bylo v následujícím dění úzce zapojeno. Ústav se pak snažil koordinovat počátky snah o transformaci výzkumné základny MZ, a někteří ze zaměstnanců se uplatnili v poradních orgánech ministerstva zdravotnictví. V roce 1990 bylo vypsáno konkurzní řízení na místo ředitele, které se přiklonilo k dr. L. Stárkovi, DrSc. V témže roce byla zákonem budova kláštera restituována řádu a vrátily se do ní sestry voršilký. Bylo to bez problémů, v internátní části budovy, sloužící dříve školní správě, byly právě dokončeny vnitřní úpravy, a tak se sestry nastěhovaly do prázdných prostor. Nájemní smlouvu s ústavem uzavřely podle zákona na 10 let. Dnes ústav používá přes 3500 m<sup>2</sup> a platí přiměřené ekonomické nájemné. Adresa na Národní třídě je tak, pro pacienty, tak pro některé zahraniční partnery ve výzkumu určitou vizitkou ústavu, který má nyní výstižnější název Endokrinologický ústav. Demokratické poměry dovolily záhy i dříve přísně kádrově střežené získání pedagogických hodností: 7 docentských habilitací a 4 profesur. Na částečný nebo celý úvazek pak v ústavu uprostřed 90. let pracovalo dalších 6 docentů a 4 profesoři. Vedoucí motolského radioisotopového oddělení Endokrinologického ústavu prof. MUDr. Jan Němec, DrSc. byl postaven v roce 1992 do čela kliniky nukleární medicíny 2. lékařské fakulty UK, což zvýšilo prestiž společného pracoviště. Administrativně velice náročný přechod na systém pojišoven při transformaci zdravotnictví zvládl ústav velmi dobře, částečně díky velmi intenzivnímu a rychlému přechodu na počítačové vybavení a spolehlivý software, prakticky přes noc ze Silvestra na Nový rok 1994.

Také reakce na totální zrušení institucionálního financování výzkumných ústavů přežil ústav slušně, byl nadprůměrně úspěšný v získávání grantových úkolů, které také úspěšně řešil. Ve druhé polovině 90. let získal pětkrát cenu ministra zdravotnictví za výzkum.

Hlavním problémem ústavu v době všeobecné krize financování zdravotnictví se nestal ekonomický propad, běžný v jiných zařízeních.

Přes velkou ztrátu, kterou znamenalo nešťastné úmrtí nadaného a nesmírně pracovitého dr. P. Štolby v roce 1994, se podařilo dobudovat dobře zařízenou laboratoř molekulárně-biologickou a pokračovat v jím naznačených moderních laboratorních trendech pod vedením dr. B. Bendlové. Dalším pilířem výzkumu je oddělení steroidních hormonů, které pod vedením prof. R. Hampla je publikačně nejpłodnější oborem v ústavu. Za významný krok lze považovat i to, že byl položen organizační, personální i věcný základ pro endokrinnologickou imunologii pod vedením doc. I. Šterzla, pro pediatriickou endokrinologii s osobnostmi jako prof. L. Lisá, dr. B. Kalvachová nebo dr. M. Dvořáková a v neposlední řadě pro oddělení funkčních testů pod vedením doc. K. Vondry. Ústav je nyní slušně vybaven a jeho pracovní prostředí bylo unikátním skloubením historické budovy a citlivě řešeného interiéru zdravotnického zařízení, které musí zvládat i nápor nových pacientů při počtu registrovaných pacientů dosahujícím 150 000.

Poměrně klidný rozvoj ústavu byl silně narušen snahou ministerstva zdravotnictví za vedení ministra Davida o administrativní začlenění výzkumných ústavů pod fakultní nemocnice. Tyto mediálně sledované boje sice ústav přestál jako právnícky a hospodářsky samostatné zařízení, ale tyto pokusy byly opět evokovány za nástupce prof. Stárky, MUDr. Karla Pacáka. DrSc., který se ujal vedení ústavu od 1. ledna 2001. Přes naděje, které do tohoto vpravdě světové-

ho a pracovitého vědce byly vkládány, se nepodařilo zajistit další vzestup ústavu, ať už pro nezdar ve snaze získat pro ústav zahraniční granty anebo pro ne dost důsledné řešení vnitřních problémů při řízení ústavu převážně na dálku z USA. Došlo také k definitivnímu oddělení motolského pracoviště od ústavu. Proto od července roku 2002 byl konkurzem vybrán na místo ředitele doc. MUDr. Vojtěch Hainer, CSc., který hned na úvod do své funkce byl postaven před úkol, jak čelit důsledkům tisícileté povodně a začlenit organicky do ústavu své obezitologické oddělení. Obohacení o obezitologii je jistě do budoucna velice perspektivním obohacením ústavních výzkumných záměrů.

Na krátké historii Endokrinologického ústavu se jistě odrazily měnící se podmínky dané velkými změnami, kterými druhá polovina 20. století prošla. Dění v ústavu bylo však také do značné míry formováno úsilím všech jeho pracovníků, kterým patří dík za dovedení ústavu do současné doby ve velmi dobré kondici.

## LITERATURA

1. **Stárka, L.:** Přední český endokrinolog Karel Šilink. Maxdorf, Praha, 1998, s. 162.
2. **Stárka, L., Pohunková, D.:** Endokrinologický ústav v zrcadle času. Endokrinologický ústav, Praha. 1996, s. 186.
3. **Černý, K.:** Výzkumný ústav endokrinologický, Praha. VÚE, Praha, 1976, s. 100.
4. **Charvát, J.:** Můj labyrint světa. Galén, Praha, 2005, s. 569.

## VÝZVA REDAKCE

Apelujeme na všechny přispěvatele Časopisu lékařů českých, aby ve svých publikacích *neopomýjeli citovat domácí autory.*

Uvádění citací českých autorů je nejen v zájmu publikujících, ale v zájmu celé naší lékařské veřejnosti. Děkujeme za porozumění a spolupráci.

*Redakční rada Časopisu lékařů českých*

## PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

**Historie, současnost a směřování steroidní endokrinologie**Hampl R., Stárka L.  
*Endokrinologický ústav, Praha*

## SOUHRN

Článek podává stručný přehled nejdůležitějších mezníků dosažených v oblasti steroidní endokrinologie od 30. let 20. století do dnes včetně významnějších objevů dosažených na pracovišti autorů. Po historickém přehledu následují kapitoly o vývoji steroidní laboratorní diagnostiky, steroidní terapie a úvaha o očekávaných trendech.

**Klíčová slova:** steroidy, laboratorní diagnostika, léčba, trendy.

## SUMMARY

*Hampl R., Stárka L.: History, Presence and Trends of Steroid Endocrinology*

The milestones achieved in the field of steroid endocrinology since thirties until present are outlined, including major goals obtained in the author's laboratory. After the brief historical survey the following chapters are devoted to steroid laboratory diagnostics, therapy and expected trends.

**Key words:** steroids, laboratory diagnostics, therapy, trends.

Ha.

*Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 193–197.*

**O**d počátku konstituování endokrinologie jako samostatného biomedicínského oboru je jeho součástí problematika steroidních hormonů. U nás je nedílně spjata se jmény zakladatelů české endokrinologie – prof. Josefa Charváta (1) a doc. Karla Šilinka. K průkopníkům problematiky steroidních hormonů u nás bezpochyby náleží M. Kandrác (2), P. Pínsker s H. Bultasovou nebo R. Doleček. Také laboratoři steroidních hormonů (později oddělení) Endokrinologického ústavu, které Šilink založil hned při vzniku ústavu, významně přispěla k rozvoji této disciplíny a práce autorů tohoto sdělení a jejich spolupracovníků mají dosud značný celosvětový ohlas. Za uplynulých 50 let dosáhla endokrinologie včetně oblasti steroidů pozoruhodného pokroku v diagnostice a léčbě celé řady onemocnění a především v poznání podstaty mechanismů, které stojí za ději, souhrnně označovanými jako endokrinní regulace. V dalším textu nastíníme hlavní cesty, kterými steroidní endokrinologie prošla, a ukážeme mezníky, jež kvalitativně posunuly naše možnosti. Konečně se pokusíme odhadnout, co můžeme v této oblasti očekávat na prahu 21. století.

**HISTORIE STEROIDNÍ ENDOKRINOLOGIE**

První hormonální steroidy byly izolovány a charakterizovány na počátku 30. let 20. století (tj. 14 let po objevu tyroxinu) a krátce nato připraveny synteticky a využity i klinicky. Tyto práce byly oceněny Nobelovými cenami (Butenandt a Ruzicka – 1939; Hench, Kendall a Reichstein – 1950; Hug-

gins – 1966). Již během válečných let byly pozorovány některé zajímavé vlastnosti steroidů, které bezprostředně nesouvisely s jejich hormonálními účinky. Patří sem například objev analgetických vlastností progesteronu, jehož mechanismus byl vysvětlen až po 40 letech, v souvislosti s poznáním neuromodulačních vlastností jeho 5 $\alpha$ -nasyčených metabolitů jako modulátorů GABA receptorů (viz kapitola Neurosteroidy). Androgeny, konkrétně testosteron, byly podávány válečným letcům jako prostředek pro povzbuzení agresivity. Anabolický účinek androgenů (3) byl podkladem léčby těžkých válečných vyčerpávacích stavů (kachektizace osvobozených válečných zajatců, popálení) těmito steroidy a jejich pozdějšího zneužití ve sportovním doping. Pro další vývoj medicíny byl asi nejvýznamnější objev protizánětlivých a imunosupresivních účinků glukokortikoidů na přelomu 40. a 50. let, oceněný Nobelovou cenou (viz kapitola Steroidní terapie). Neméně důležité byly výzkumy přesahující svým významem medicínu, které se týkaly antikoncepce pomocí perorálního podávání estrogenů a gestagenů, zahájené Pincusem kolem roku 1950 (4, 5). Pro 50. léta a počátek 60. let minulého století je typický rozvoj chemie steroidních sloučenin včetně přípravy celé řady syntetických analogů hormonálních steroidů, z nich řada dodnes patří mezi vyhledávaná léčiva (kortikoidy, sexuální hormony a jejich analogy, deriváty D-vitaminu). Významným přínosem steroidní chemie byla izolace aldosteronu Neheem a Taitem koncem 50. let (6). Uvádí se, že v 60. letech plnou třetinu zisků farmaceutického průmyslu tvořily steroidy. V 60. letech konkrétně od Tokijské olympiády v roce 1964

se objevil další, tentokrát nežádoucí fenomén – zneužívání steroidních anabolik ve vrcholovém sportu, který byl ale i jedním z impulzů pro pokroky steroidní analytiky, zejména kombinace chromatografických separačních technik s hmotovou spektrometrií.

Díky využití radioizotopy značených sloučenin, především  $^{14}\text{C}$  a  $^3\text{H}$ , byla v té době prakticky vyřešena otázka biosyntézy všech hormonálních steroidů a jejich metabolických osudů, jak je dnes nalézáme v učebnicích endokrinologie a biochemie. Z této doby pochází i koncepce fetoplacentární jednotky formulovaná Diczfalusym (7, 8) o souhře biochemických pochodů při biosyntéze sexuálních steroidů mezi mateřským organizmem, respektive placentou a plodem během těhotenství. Díky relativně liberální politice vůči výzkumu s lidskými embryi z legálních potrátů byly v té době na našem pracovišti, spolu s předními embryology (např. 9) zmapovány jednotlivé stupně biosyntézy hormonálních steroidů v raných stádiích prenatálního vývoje.

Na konci 60. let se objevily první radioimunoeseje steroidů, navazující na vynález radioimunoanalýzy Yalowovou a Bersonem (původně určený pro stanovení inzulínu). Není bez zajímavosti, že protilátky vůči steroidům jako haptenum byly připraveny již o 10 let dříve s cílem využít je jako anti-hormony (10). Imunoeseje až o několik řádů posunuly mez detekovatelnosti oproti klasickým spektrálním a později chromatografickým metodám, což umožnilo měření aktuálních sérových hladin prakticky všech hormonálních steroidů a biologicky významných metabolitů. Endokrinologům se tak dostalo mimořádně účinného nástroje pro diagnostiku endokrinopatií, způsobených poruchou tvorby a metabolismu steroidů.

Druhá polovina 60. let je také dobou zavedení hormonální antikoncepce, založené na blokádě ovulace ženskými sexuálními steroidy, ať už kombinací estrogenů s progestiny či kontraptiv, obsahujícími pouze progestin. Její dopad včetně obrovských částek plynoucích do farmaceutického průmyslu v globálním měřítku není třeba zdůrazňovat. Další novinkou z tohoto období byla dodnes živě diskutovaná náhradní estrogení terapie, opírající se o nové poznatky v mechanismu účinku steroidních hormonů.

Poznání receptorového mechanismu účinku steroidních hormonů na počátku 70. let minulého století představovalo výrazný pokrok v názírání na děje odehrávající se v cílových buňkách po vstupu hormonu do buňky. Skutečnost, že steroidní hormony působí výlučně jako regulátory genové exprese od samého počátku, tj. transkripce (genomové účinky), po řadu let figurovalo v učebnicích jako dogma, které bylo zpochybněno teprve v posledních dvou dekadách v souvislosti s průkazem negenomových účinků steroidů a v širších souvislostech s poznáním signálních drah, kterých se steroidy zúčastňují. Izolace a charakteristika nitrobuňkových steroidních receptorů a možnost experimentování s těmito bílkoviny a později i s geny, které je kódují *in vitro*, poskytla řadu poznatků, které se staly teoretickým podkladem pro využití agonistů a antagonistů hormonálních steroidů, využívaných v terapii. Patří sem zmíněná náhradní terapie estrogeny, jejich antagonisty, léčebné využití glukokortikoidů (viz níže) či androgenů a anabolik. Při hledání vhodných antagonistů hormonálních steroidů byl francouzskou skupinou kolem J. P. Raunauda (Russel–Uclaf) mj. připraven steroid mifepriston jako žádaný antiglukokortikoid a při jeho testování se

zjistilo, že působí i jako mimořádně účinné abortivum, což nastolilo vážný etický problém.

Dalším významným mezníkem byl vstup molekulární biologie a genetiky do endokrinologie v 80. a zejména 90. letech 20. století. Poznání lidského genomu včetně genů, kódujících enzymy steroidního metabolismu, steroidních receptorů a dalších signálních molekul zúčastněných v procesu souhrnně označovaného jako mechanismus účinku a jejich srovnání s genovou databází odhalilo nečekané souvislosti a stojí za poznáním řady steroidních enzymopatií a receptorových poruch. Jako příklad uvedme ichtyózu, dermatopatii, která je spojena s mutací genu pro enzym steroidní sulfatáza (udržuje rovnováhu mezi nekongugovanými steroidy a jejich sulfáty) nebo Smithův–Lemliho–Opitzův syndrom s poruchou redukce dvojnásobné vazby v poloze 7 prekurzoru cholesterolu. Byly prokázány mutace genů pro klíčové enzymy biosyntézy kortikoidů, jež jsou příčinou vrozené adrenální hyperplazie (CAH), na prvním místě 21-hydroxylázy, jež je v 90 % příčinou uvedené choroby. Je namístě zdůraznit, že počet zjištěných mutací je značný a jejich dopad na míru onemocnění rozdílný. Zahrnují mírné poruchy, až po situace obtížně sluchitelné se životem. Podobná situace je u steroidních receptorů: mutace androgenních receptorů patří například mezi nejpestřejší genové poruchy v endokrinologii, i když jde jinak o endokrinopatie poměrně vzácné. Tato rozmanitost je důvodem, proč stále dáváme přednost jednodušším a ekonomicky přijatelnějším laboratorním metodám pro odkrytí uvedených poruch před molekulárně–genetickou analýzou, jež by odkryla konkrétní mutaci (srovnání kapitola Steroidní laboratorní diagnostika).

Pro současnou steroidní endokrinologii je příznačné prolínání s dalšími obory, zejména imunologií a neurologií – resp. psychoneuroendokrinologií. Řada „klasických“ endokrinopatií má svůj původ v autoimunitních dějích a platí to samozřejmě i pro oblast steroidů. Autoimunitní pochody často postihují více endokrinně aktivních orgánů (tkání, buněk), jak dokumentuje mj. polyglandulární autoimunitní syndrom (11). Mezi antigeny, vůči nimž se tvoří adrenální autoproti-látky, opět patří klíčové enzymy biosyntézy hormonálních steroidů, již zmíněná 21-hydroxyláza a další (11 $\beta$ -hydroxyláza, 17 $\alpha$ -hydroxyláza). S postupným poznáváním signálních drah při imunitní odpovědi se hledají místa, kde zasahují steroidy. Především se jedná o pestré účinky glukokortikoidů a jak ukážeme v poslední kapitole tohoto článku, jejich endogenních antagonistů, na prvním místě dehydroepiandrosteronu a některých jeho metabolitů. Některé konkrétní příklady ze současné problematiky uvádíme v poslední kapitole tohoto článku. Jinak tematicke imunoen-dokrinologie včetně úlohy steroidů je věnován jiný článek v tomto čísle – autorů Šterzl, I. et al.). Problematika neurosteroidů je předmětem dalšího článku v tomto čísle (Bičíková, M., Hampl, R.).

## STEROIDNÍ LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Díky imunoesejím lze dnes stanovit všechny hormonální steroidy v séru (nebo v plazmě, což u steroidů nehraje většinou významnou roli). Konkrétně jde o aldosteron, estrogeny estradiol, estriol a estron i jejich sulfáty, kortisol, progesteron a testosteron. Dalšími rutinně stanovovanými analyty

jsou významné prekurzory metabolických drah, jako jsou dehydroepiandrosteron a jeho sulfát (DHEA/S), 17-hydroxyprogesteron, androstendion a z biologicky významných metabolitů periferně účinný dihydrotestosteron. K dispozici ve speciálních laboratořích jsou metody pro stanovení androstendiolu (estrogenně účinný metabolit DHEA), allopregnanolonu (nasycený metabolit progesteronu a významný neurosteroid), 11-deoxykortikosteronu, 11- a 21-deoxykortisolu (specifiční ukazatelé bloku enzymů biosyntézy kortikoidů), kortikosteron a 18-hydroxykortikosteron (meziprodukty při tvorbě aldosteronu), prekurzory biosyntézy DHEA – pregnenolon, jeho 17-hydroxyderivát a jejich sulfáty a 11 $\beta$ -hydroxyandrostendion, považovaný za výlučně adrenální androgen. Kromě estronu, estriolu a jejich sulfátů, významných pro laboratorní diagnostiku v porodnictví a gynekologii a 18-hydroxykortikosteronu, se všechny uvedené steroidy stanovují v laboratoři autorů tohoto článku. Kromě těchto steroidů se v naší laboratoři stanovují některé biologicky zajímavé metabolity DHEA, které jsou předmětem současného výzkumu. Další stanovované metabolity a meziprodukty pro výzkumné účely je možno stanovit pomocí pracnějších metod hmotové spektrometrie spojené s chromatografickými technikami.

Hlavními indikacemi laboratorních vyšetření steroidů zůstávají jak vrozené, tak získané poruchy tvorby a metabolismu steroidů, jejich řídicích mechanismů a receptorové poruchy. Steroidy ale zasahují do autoimunitních dějů a jako takové se uplatňují jako doplňující vyšetření v diagnostice tyreopatií a diabetes mellitus obou typů. Sem patří především stanovení DHEA/S a některých jeho metabolitů (7-hydroxy-DHEA), považované za lokálně účinné imunoprotektivní působky, tlumící přehnané účinky glukokortikoidů.

Mezi „klasické“ indikace stanovení kortisolu, resp. aldosteronu patří hyper- či hypofunkce kůry nadledvin (Cushingova choroba, hyperaldosteronismus a na druhé straně Addisonismus), i když jde o choroby poměrně vzácné. Podstatně častější jsou subklinické stavy, kde příčinou mohou být jak porucha tvorby příslušného hormonu, tak snížená či zvýšená citlivost. K lokalizaci poruchy – centrální či periferní jsou k dispozici funkční dynamické testy (dnes se v praxi využívá především ACTH a dexametasonový test a vyšetření plazmatické reninové aktivity nebo přímé stanovení plazmatického reninu). Dobré zkušenosti s testováním adrenální rezervy na našem pracovišti byly získány s jednomikrogramovým ACTH testem, který se ukázal prakticky rovnocenný s „klasickým“ testem (12). Vedle plazmatického kortisolu lze s výhodou využít neinvazivní stanovení ve slinách: slinný kortisol koreluje s volným, na transkortin nevázaným hormonem. Od konce 70. let se využívá stanovení slinného kortisolu například i v psychiatrii, jako nezávislý ukazatel kompenzace endogenních depresí: U těchto pacientů je porušen typický diurnální rytmus sekrece kortisolu a tyto nemocní neodpovídají na supresi dexametasonem (13).

Významné místo ve steroidní laboratorní diagnostice má průkaz a monitorování léčby vrozené adrenální hyperplazie (CAH). 17-hydroxyprogesteron (17-OH-P) jako prekurzor, který se hromadí při nejčastějších blocích steroidogeneze v nadledvinách (21-hydroxyláza, 11 $\beta$ -hydroxyláza) lze stanovit i v suché kapce krve. Skříňink novorozenecké CAH na základě stanovení 17-OH-P se u nás zatím provádí jen na vybraných pracovištích. Díky poučenosti neonatologů jsou

ale tyto případy většinou zavčas odhaleny. Častější jsou případy tzv. pozdního nástupu (late onset) CAH, které se projevují až ve zlomových obdobích života, především v pubertě. Stanovení 17-OH-P spolu s prekurzorem testosteronu, androstendionem, se využívá při monitorování substituční léčby CAH. 17-OH-P se stanovuje i v plodové vodě v případech, kde některý z rodičů je nositelem poruchy. Přestože je dnes možné poruchy enzymů steroidogeneze vedoucí k CAH určit metodami molekulární genetiky, v praxi stále dáváme přednost stanovení vybraných steroidů: Mutací genů kódujících klíčové enzymy tvorby kortikoidů byly popsány stovky a jejich dopad na klinické projevy poruchy se může značně lišit. Na našem pracovišti jsme proto zavedli postup odkrývání heterozygotních přenašečů CAH, založený na stanovení výlučně adrenálních steroidů a steroidů pocházejících jak z nadledvin, tak gonád v krátkém ACTH testu (14): Vypočte se hodnota  $R_{\max}$  a  $R_{\text{baz}}$  při maximální stimulaci resp. bazální podílu  $R = (\text{kortisol} \cdot 11\beta\text{-hydroxyandrostendion} / 17\text{-OHP} \cdot \text{androstendion})$ . Je-li rozdíl  $R_{\max} - R_{\text{baz}}$  záporný, s vysokou pravděpodobností jde o přenašeče choroby. Ke zjištění konkrétního enzymového bloku steroidogeneze slouží stanovení prekurzorů v biosyntetické dráze, zmíněných na začátku této kapitoly.

Jiným testem, který se osvědčil pro praktické odkrývání dalších vzácných poruch periferní citlivosti na androgeny, je postup založený na existenci negativní asociace tvorby jaterního sexuálního hormonu vázajícího globulinu (SHBG) s testosteronem. Pacientovi se podá vhodný androgen (depotní formy testosteronu nebo některé anabolikum, dříve se používal např. stanazolol) a před podáním a po obvykle 7 dnech se změní hladina plazmatického SHBG. Jestliže SHBG neklesne (jako hraniční hodnota se uvádí 80 % výchozí hladiny), lze usuzovat na poruchu (15). Je namístě zdůraznit, že poruchy periferní citlivosti na androgeny, zjistitelné metodami molekulární genetiky, způsobené mutacemi genu pro androgenní receptor, jsou mimořádně pestré (dosud je popsáno přes 600 různých mutací), s projevy od mírných hypogonadizmů až po testikulární feminizaci.

Zmíňme na tomto místě vysokou výpovědní hodnotu stanovení SHBG v laboratorní diagnostice některých endokrinopatií, ale také některých metabolických onemocnění, jako je metabolický syndrom. Tento plazmatický transportní protein, vázající jak androgeny, tak estrogen (protože má vlastní receptory na membránách, jejichž aktivací se spouští adenylátcyklázová signální dráha, považuje se dnes za hormon) je zapojen do tří regulačních okruhů (os). Uvedli jsme vztah mezi androgeny, které jeho tvorbu snižují, zatímco estrogeny naopak zvyšují. Hladiny SHBG dále pozitivně korelují s tyreoidálními hormony: U hypertyreózy jsou zvýšeny, u hypothyreózy sníženy. Na základě rozsáhlého souboru dat jsme testovali výpovědní hodnotu stanovení SHBG pro potvrzení subklinických poruch funkce štítné žlázy. Významným ukazatelem byl pouze zvýšený SHBG u subklinických hypertyreózy (16). SHBG však je zapojen i do inzulinární osy: Jeho hladiny negativně asociují s inzulinem. Prakticky lze této skutečnosti využít při diagnostice jednoho z nejčastějších endokrinních onemocnění žen ve fertilním věku, totiž syndromu polycystických ovárií (PCOS): Typickým projevem PCOS je porucha periferní citlivosti na inzulin. Zvýšená inzulinémie vede ke snížení SHBG, a tím ke zvýšení volné frakce androgenů. Proto tyto ženy, často obézní, bývají

hirzutické. V praxi se také ukázalo, že lepším laboratorním ukazatelem hyperandrogenizace u pacientek s PCOS než celkový testosteron je jeho prekurzor androstendion.

## STEROIDNÍ TERAPIE

Mezi steroidy masově využívané jako terapeutika patří vedle hormonálních kontraceptiv na bázi estrogenů a progestinů především glukokortikoidy. Fyziologickou úlohou glukokortikoidů (GK) je spolu s inzulínem, glukagonem, růstovým hormonem a katecholaminy udržování glykémie ve fyziologickém rozmezí. To je zejména důležité při negativní energetické bilanci a při zajišťování přednostního zásobování mozku a nervové tkáně glukózou v zátěžových situacích. Sumárně GK působí kontraintulárně v oblasti glykoregulace a glukózové tolerance. Jejich hlavní účinky tak spočívají ve zvýšení endogenní tvorby glukózy na úrovni aktivace a regulace exprese klíčových enzymů glykolýzy, glukoneogeneze a glykogenolýzy, ve snížení utilizace glukózy v inzulín dependentních periferních tkáních a v supresivním vlivu glukokortikoidů na sekreci inzulínu z B buněk.

Hlavní indikací, pro kterou jsou GK využívány více než 50 let v řadě medicínských oborů, jsou však jejich protizánětlivé a imunosupresivní účinky. Daní za tento benefit jsou nepříznivé zásahy do glykoregulace vedoucí až k rozvoji diabetes mellitus obou typů a negativní dopad jejich katabolických účinků na skelet a pojivo. Podrobněji byla tato kapitola zpracována v nedávném přehledu (17).

Substituční terapie glukokortikoidy a mineralokortikoidy u hypokortikalizmů včetně léčby CAH patří k dobře zvládnutým oblastem steroidní terapie. O monitorování této léčby jsme se zmínili v předchozí kapitole.

Zatímco mechanismy působení GK při glykoregulaci a v širším záběru jejich metabolické účinky patří mezi dobře prozkoumané oblasti fyziologie a biochemie, molekulární mechanismy, dodejme velmi pestré, které stojí za zmíněnými protizánětlivými a imunomodulačními účinky, byly podhaleny teprve nedávno. GK ovlivňují jak buněčnou, tak protilátkovou imunitu na různých úrovních, a to jak mechanismy negenomovými, spočívajícími v kaskádové aktivaci v buňce přítomných systémů, tak (a to převážně) genomově, regulací exprese celé řady proteinů. Z nejznámějších účinků glukokortikoidů připomeňme následující, často navzájem propojené události: ovlivnění produkce cytokinů, involuce tymu a aktivace apoptózy T-lymfocytů a inhibice jejich proliferace, ovlivnění migrace makrofágů do zasažených periferních tkání, uvolnění mediátorů zánětu – metabolitů kyseliny arachidonové a účast v mechanismu oxidačního stresu. Donedávna útržkovité poznatky o jednotlivých signálních drahách a místech zásahů GK se začínají skládat do mozaiky a v blízké budoucnosti tak můžeme očekávat, že poskytnou racionální podklad pro praktické terapeutické využití. Významným zjištěním byla skutečnost, že některé steroidy, konkrétně dehydroepiandrosteron a jeho 7-hydroxylované metabolity působí jako endogenní antiglukokortikoidy, tlumící na různých úrovních jejich účinky. Molekulární mechanismy těchto účinků jsou předmětem intenzivního studia. DHEA, v některých zemích jako USA volně dostupný jako potravinový doplněk, se tak stal dalším kandidátem (náhradní) steroidní terapie (podrobněji viz 18).

Nebudeme zde probírat stále diskutovanou kapitolu náhradní substituční terapie estrogeny (HRT), konkrétně rozbor přínosů a rizik. Názory odborníků na tuto otázku se kyvadlovitě mění, od jednoznačného doporučení až po varovné hlasy zdůrazňující nebezpečí vzniku karcinomů ženských reprodukčních orgánů. Intenzivní výzkum přinesl řadu poznatků o mechanismu účinku estrogenů při existenci dvou typů receptorů (alfa a beta), o úloze aromatázy, o negenomových účincích estrogenů a další, které slouží jako argumenty pro racionální terapii. Nepochybným přínosem bylo i využití tzv. koňských estrogenů (ekvilinu a ekvileninu) v HRT, mj. i díky tomu, že nejsou metabolizovány jako „lidské“ estrogeny na 16-hydroxylované produkty, považované za škodlivé.

Epidemiologické studie fytoestrogenů odvozených od rostlinných izoflavonoidů, poukázaly na nižší výskyt karcinomů prsu a ženských reprodukčních orgánů u východoasijských národů, konzumujících sóju jako hlavního zdroje těchto látek. Tyto nálezy podnítily širokou nabídku fytoestrogenů jako potravinových doplňků nebo i HRT. Některé výsledky však naznačily, že i zde je třeba počítat s nežádoucími účinky (19).

## VÝHLEDY A TRENDY

V předchozích odstavcích jsme se pokusili naznačit významné skutečnosti, které posunuly oblast steroidní endokrinologie. Zaměřili jsme se jen na některé otázky, které považujeme za klíčové, a na ty, kde jsme měli možnost se na této problematice podílet. Zdaleka nejde o vyčerpávající přehled. Závěrem se pokusíme odhadnout, kam se bude poznání a z něj vyplývající využití v medicíně ubírat.

Vzhledem k zastoupení endokrinních autoimunit mezi endokrinopatiemi a možných zásahů steroidů do dějů, které je vyvolávají, patří mezi perspektivní výzkum imunomodulačních účinků steroidů. Podobně je tomu u neuroaktivních steroidů, kterým je věnován jeden z článků v tomto čísle (Bičíková, M., Hampl, R.). Očekáváme zásadní výsledky o úloze vybraných steroidů při vzniku a rozvoji tak závažných onemocnění, jakou je Alzheimerova choroba.

Významné jsou zde i genetické aspekty, konkrétně studium genů–kandidátů, asociovaných s různými endokrinními chorobami, kde se steroidy uplatňují. Klíčové bude opět poznání příslušných signálních drah zahajovaných steroidy a genů, které kódují příslušné proteiny (enzymy tvorby a metabolismu steroidů, receptory, transkripční faktory). Právě poslední patří mezi nejintenzivněji studované faktory.

Stárnoucí populace a prodloužení délky života nepochybně přinese řadu problémů, spojených se zlepšením kvality života seniorů a využití poznatků z oblasti steroidní endokrinologie. Sem patří mj. boj proti stařecké osteoporóze i problémy spojené s vyhasnutím reprodukčních funkcí nejen u žen, ale i u mužů (PADAM). Závažným civilizačním problémem je obezita, zejména její hrozivý nárůst v dětském věku a s tím spojené poznání úlohy steroidních hormonů a jejich syntetických analogů.

Léčba glukokortikoidy pro neendokrinní onemocnění (včetně megadávek) a jejich endogenními i exogenními antagonisty se nepochybně dočká racionálního zdůvodnění. Lze očekávat další výsledky v oblasti HRT včetně nových kandi-



dátů na tuto léčbu (DHEA, jeho metabolity, fytoestrogeny). S tím souvisí i výzkum endogenních steroidů, doposud považovaných za neúčinné metabolity nebo prekurzory hormonálně aktivních látek.

Současné možnosti steroidní laboratorní diagnostiky budou více využívány nejen na specializovaných pracovištích, přičemž hlavní důraz bude kladen na ekonomizaci a organizaci vyšetření včetně preanalytické fáze a vyřešení logistických otázek a minimalizování požadavků na množství analyzovaného materiálu.

#### Zkratky

ACTH	– adrenokortikotropní hormon (adrenocorticotropic hormone)
CAH	– vrozená adrenální hyperplazie
DHEA/S	– sulfát dehydroepiandrosteronu
GK	– glukokortikoid
HRT	– náhradní hormonální terapie
PADAM	– částečná androgenní nedostatečnost stárnoucích mužů (partial androgen deficiency of aging men)
PCOS	– syndrom polycystických ovarií
SHBG	– sexuální hormon vázajícího globulinu

#### LITERATURA

1. **Charvát, J.:** Steroidní hormony. Praha, Zdravotnické nakladatelství, 1952.
2. **Kandráč, M.:** Steroidní diagnostika. Bratislava, Vydavatelství SAV, 1955.
3. **Kochakian, C. D.:** Effect of male hormone on protein metabolism of castrate dogs. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1935, 32, s. 750-755.
4. **Davis, K. S.:** The story of the pill. Am. Herit., 1978, 29, s. 80-91.
5. **Segal, S. J.:** Gregory Pincus, father of the pill. Popul. Today, 2000, 28, s. 3.
6. **Tait, S. A., Tait, J. F., Coghlan, J. P.:** The discovery, isolation and identification of aldosterone: reflections on emerging regulation and function. Mol. cell Endocrinol., 2004 217, s. 1-21.
7. **Diczfalusy, E.:** Fetoplacental hormones and human gestation. Basic Life Sci., 1974, 4 (Part B), s. 385-402.
8. **Miller, W. L.:** Steroid hormone biosynthesis and actions in the materno-feto-placental unit. Clin. Perinatol., 1998, 25, s. 799-817.
9. **Šulcová, J., Jirásek, J. E., Dvořák, P., Stárka, L.:** The development of the androgen metabolizing activity in the human amniotic epithelium. J. steroid Biochem., 1980, 12, s. 89-93.
10. **Erlanger, B. F., Borek, F., Beiser, S. M., Lieberman, S.:** Steroid-protein conjugates. I. Preparation and characterization of conjugates of bovine serum albumin with testosterone and with cortisone. J. biol. Chem., 1957, 228, s. 713-27.
11. **Hrnčiar, J., Hrnčiarová, M.:** Autoimunitné polyglandulárne endokrinné syndrómy. In: Kreze, A. et al.: Všeobecná a klinická endokrinológia. Bratislava, Acad. Electron Press, 2004, s. 762-769.
12. **Šimůnková, K., Hampl, R., Hill, M. et al.:** Salivary cortisol in low dose (1 microg) ACTH test in healthy women: comparison with serum cortisol. Physiol. Res., 2006 (přijato do tisku).
13. **Ribeiro, S. C., Tandon, R., Grunhaus, L., Greden, J. F.:** The DST as a predictor of outcome in depression: a metaanalysis. Am. J. Psychiatry, 1993, 150, s. 1618-1629.
14. **Šulcová, J., Bryšová, V., Hill, M. et al.:** Detekce heterozygotních přenašečů bloku 21-hydroxylázy steroidů biochemickou metodou. Čs. Pediat., 1998, 53, s. 67-63.
15. **Hampl, R., Stárka, L., Kalvachová, B. et al.:** Evaluation of SHBG test for disclosure of insensitivity to androgens. Endocrine Regul., 1993, 26, s. 65-70.
16. **Hampl, R., Kancheva, R., Hill, M. et al.:** Interpretation of sex hormone-binding globulin levels in thyroid disorders. Thyroid, 2003, 13, s. 755-760.
17. **Vondra, K., Hampl, R.:** Léčba glukokortikoidy a poruchy glukózové tolerance. Vnitř. Lék., 2006, 52, s. 493-497.
18. **Hampl, R., Vondra, K.:** Přírozené antiglukokortikoidy. Vnitř. Lék., 2006, 52, s. 973-978.
19. **Stárka, L., Hampl, R., Lapčík O., Adlercreutz, H.:** Fytoestrogeny a civilizační choroby. Diabetologie, Metabolismus, Endokrinologie a Výživa, 1999, 2, s. 3-9.

Podpořeno grantem IGA MZ č. 8525-5.

#### Fotodynamické léčení akné bez fotosenzitizéru

V kožním mazu akníků byly chromatograficky nalezeny koproporfyriny, zejména koproporfyrin III, který pravděpodobně indukuje tvorbu prozánětlivého cytokinu interleukin 8 (IL-8), a tak přispívá k pato-

genezi akné. Koproporfyrin III jako endogenní fotosenzitizér umožňuje zavést fotodynamickou terapii bez aplikace fotosenzitizéru zevního. Předběžné výsledky použití modrého světla vypadají slibně.

**Nalezeno nové léčení lehkých forem juvenilní akné bez aplikace zevních léků.**

#### Literatura:

**Borelli, C. et al.:** *In vivo* porphyrin production by P. acnes in untreated acne patients and its modulation by acne treatment. Acta derm. Venereol., 2006, 86, s. 316-319.

P. Barták

## PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

# Studium genetických příčin polygenně determinovaných endokrinopatií – aneb trpělivostí k úspěchu

Bendlová B., Vaňková M., Lukášová P., Včelák J., Vejražková D.,  
Kunešová M., Vrbíková J., Zajíčková K., Žofková I., Vondra K., Hainer V.  
*Endokrinologický ústav, Praha*

## SOUHRN

Komplexní endokrinopatie, jako je diabetes mellitus, obezita, syndrom polycystických ovaríí a osteoporóza, patří mezi nejrozšířenější onemocnění, jejich patogeneze však stále není zcela objasněna. Na jejich vzniku a rozvoji se uplatňují vedle vnějších faktorů značnou měrou i faktory genetické. Studium genetických příčin využívá různých strategií, nejčastěji metod vazebné analýzy a asociačních studií kandidátních genů. Zdá se, že běžné formy těchto endokrinopatií nejsou důsledkem poruchy jednoho nebo několika málo genů, ale že je nutné pátrat po složitých interakcích mezi řadou genetických variant a vnějších modulujících faktorů. Článek podává stručný přehled současných znalostí genetického pozadí zmíněných onemocnění spolu s našimi zkušenostmi na tomto poli výzkumu.

**Klíčová slova:** genetika, diabetes mellitus 2. typu, obezita, syndrom polycystických ovaríí, osteoporóza, asociační studie, kandidátní geny, vazebná analýza.

## SUMMARY

*Bendlová B., Vaňková M., Lukášová P. et al.: Study of the Genetic Causes of Polygenetically Determined Endocrinopathies – Patience Can Bring Success*

Complex endocrinopathies, such as diabetes mellitus, obesity, polycystic ovary syndrome and osteoporosis belong to the most common diseases but their pathogenesis is still not fully explained. Environmental factors along with genetic factors contribute to their occurrence and development. The study of genetic background is based on different strategies, mostly on linkage analysis and candidate gene approach. The common forms of these endocrinopathies do not seem to be the result of a defect of one or several major genes but the search for complex gene-gene, gene-environment interactions is needed. The article gives a short review of the recent knowledge together with our own experience in the field of study of the genetic background of polygenic diseases.

**Key words:** genetics, diabetes mellitus type 2, obesity, polycystic ovary syndrome, osteoporosis, association study, candidate gene, linkage analysis. *Be.*

*Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 198–204.*

**Ž**ijeme v době, kdy molekulárně biologické a molekulárně-genetické metody pronikají do všech oblastí medicíny. Intenzivně se pátrá po příčinách lidských nemocí na molekulární úrovni, vyvíjejí se neustále kvalitnější diagnostické metodiky. I genetická a molekulární endokrinologie se rozvíjí nesmírně dynamicky, prakticky každým dnem přibývají nové poznatky (1).

Většina civilizačních nemocí, které jsou spojeny s nejvyšší morbiditou a mortalitou populace (diabetes mellitus, hypertenze, kardiovaskulární onemocnění, osteoporóza, psychiatrická onemocnění – schizofrenie, manio-depresivní stavy, Alzheimerova nemoc aj.), jsou nemoci s komplexní – multifaktoriální dědičností. Nejsou důsledkem poruchy jednoho genu, ale na jejich rozvoji se podílí predisponující genetické faktory společně s řadou vlivů vnějšího prostředí.

Poznání všech těchto složitých souvislostí a interakcí (gen–gen, gen–prostředí) je nesmírně obtížné, ale v současnosti je největší výzvou pro molekulární genetiky.

Cílem je využít těchto poznatků k zavedení včasných preventivních opatření a k individualizované terapii s využitím farmakogenetiky a genové terapie (2).

## DŮKAZ GENETICKÉ SLOŽKY KOMPLEXNÍCH NEMOCÍ

Familiární výskyt komplexního onemocnění napovídá, že se v jeho patogenezi uplatňuje genetická složka, ale nemusí to být vždy pravda. V rodinách je sdílena i řada vnějších faktorů, stravovací a pohybové návyky. Míru familiární agregace vyjadřujeme jako podíl prevalence

nemoci u příbuzných postižené osoby ku prevalenci této nemoci v populaci (podíl relativního rizika  $\lambda_r$ ). Pro hodnocení podílu genetických faktorů na rozvoji komplexního onemocnění se často využívá sledování konkordance (výskyt nemoci u příbuzných) a míry sdílení alel mezi příbuznými. Děti dědí polovinu genetické výbavy svých rodičů, příbuzní 2. stupně sdílí 25 % alel s postiženým, se vzdálenější příbuzností míra sdílení alel rapidně klesá. Pokud míra konkordance se vzdálenější příbuzností klesá, lze usuzovat, že se na rozvoji nemoci genetické faktory podílejí významně. Situaci komplikuje fakt, že ne vždy se v rodině stejné genetické pozadí projeví shodně fenotypicky (důsledek genokopie, fenokopie, rozdílné penetrace). Studie porovnávající míru konkordance u monozygotních (MZ) dvojčat (ve všech lokusech mají stejný genotyp) v porovnání s dizygotními (DZ) dvojčaty (sdílejí 50 % alel), či studie adoptovaných dětí umožňují do jisté míry odlišit vlivy genetické od vlivů prostředí. Vyšší konkordance u MZ dvojčat oproti DZ vypovídá o vyšším podílu genetických faktorů. Pro studium genetického pozadí obezity či diabetes mellitus 2. typu jsou velmi cenné studie MZ dvojčat vyrůstajících odděleně v různých domácnostech, které vylučují shodné stravovací a pohybové návyky. Všechny výše zmíněné studie mají sice svá omezení (3), ale jsou při studiu podílu genetických faktorů v patogenezi komplexních nemocí tím nejlepším, co je v lidské genetice k dispozici.

Při studiu genetického pozadí komplexních nemocí často sledujeme dědičnost a genetickou determinovanost vybraných kvantitativních znaků (měřitelných antropometrických, biochemických, hormonálních aj. veličin). Tyto znaky jsou v populaci variabilní, mají svůj populační fenotypový rozptyl. Pro kvantifikaci podílu genů na fenotypovém rozptylu (variability) daného kvantitativního znaku byl zaveden pojem heritabilita ( $h^2$ ). Nejčastěji je heritabilita odhadnuta z rozdílu fenotypového rozptylu měřeného znaku u MZ a DZ ( $h^2 = (\text{rozptyl u DZ} - \text{rozptyl u MZ}) / \text{rozptyl u DZ}$ ). Hodnota  $h^2$  nabývá hodnot od 0 do 1, čím více se  $h^2$  blíží k 1, tím více je kvantitativní znak determinován genetickými faktory.

### STRATEGIE GENETICKÉHO VÝZKUMU KOMPLEXNÍCH NEMOCÍ

Studium genetických příčin komplexních nemocí je velmi obtížné, neboť tato onemocnění bývají velmi heterogenní, nejsou známy jejich patobiochemické příčiny, problematické bývá i shromáždění dostatečně rozsáhlých a podrobně fenotypicky charakterizovaných souborů vhodných pro genetickou analýzu a znalost a kvantifikace vnějších faktorů. Při hledání příčinných genových alterací se obecně využívají dvě odlišné strategie – vazebná analýza a asociální studie (4).

### VAZEBNÁ ANALÝZA

Prokáže-li se dědičnost onemocnění v rodinách, přistupuje se k hledání lokusů (chromozomálních oblastí DNA), které segregují s onemocněním a které s největší pravděpo-

dobností obsahují příčinné geny. U komplexních nemocí využíváme zejména tzv. neparametrické vazebné analýzy (nevyžaduje znalost typu dědičnosti, počet účastnících se lokusů aj.), která zjišťuje, do jaké míry příbuzní jedinci sdílejí alely, které predisponují k nemoci. Tato analýza vyžaduje rozsáhlé rodokmeny, což u nemocí s pozdním nástupem bývá problém; proto se využívá snadněji dostupných souborů, nejčastěji postižených sourozeneckých párů. Pomocí stovek polymorfních markerů postihujících celý genom (komplementární úseky DNA se známou chromozomální lokalizací) se zjišťuje, které lokusy konkordantní sourozenci sdílejí častěji, než by odpovídalo náhodě (více než 50% pravděpodobnost sdílení). V blízkosti takového lokusu by se mohl nacházet lokus zodpovědný za onemocnění. Tato velmi pracná metoda je u komplexních nemocí poměrně málo citlivá. Aby byla zajištěna dostatečná statistická síla, je potřeba analyzovat stovky postižených párů. Neparametrickou vazebnou analýzou lze postihnout pouze relativně rozsáhlé oblasti, nikoliv úzký interval, který umožňuje odhalit parametrická vazebná analýza opírající se o známý model dědičnosti (využívaná s výhodou u monogenních onemocnění). Tomu odpovídají LOD skóre (kvantifikující pravděpodobnost, že marker a hledaný lokus jsou ve vazbě), která jsou u komplexních nemocí podstatně nižší než u monogenních.

### ASOCIAČNÍ STUDIE

Tyto studie zjišťují asociaci určité alely (konkrétní genové varianty) s onemocněním. Zjišťuje se frekvence této alely v souboru nepříbuzných postižených jedinců v porovnání s kontrolním souborem. Síla asociace je vyjadřována tzv. poměrem šancí (odds ratio), který vyjadřuje kolikrát mají osoby nesoucí studovanou alelu (např. mutaci genu) vyšší riziko onemocnění ve srovnání s osobami bez mutace (výpočet  $\text{odds ratio} = \text{pacienti s mutací} * \text{kontrola bez mutace} / \text{pacienti bez mutace} * \text{kontrola s mutací}$ ). Zvýšený poměr šancí nemusí vždy znamenat, že jsme detekovali příčinnou mutaci, ale testovaná mutace může být ve vazebné nerovnováze s neznámou příčinnou mutací, která se však nachází v nevelké chromozomální vzdálenosti.

Asociální studie testují předem vytipované kandidátní geny. Výběr je obrovský, kandidátní geny jsou vybírány na základě předpokládané patobiochemické funkce, na základě výsledků studií zvířecích modelů, předchozích vazebných studií, expresních studií apod. I když byly provedeny již stovky nejrozličnějších asociálních studií, jejich výsledky bývají u komplexních onemocnění velmi kontroverzní a je potřeba je obezřetně interpretovat. Opět je to dáno obrovskou heterogenitou a komplexností těchto nemocí, nedostatečně rozsáhlými soubory, možnou populační stratifikací, etnickými rozdíly, problematickou definicí kontrolních souborů (vzhledem k vysoké prevalenci onemocnění v populaci a jejich pozdějšímu nástupu) apod. Bohužel ani u jednoho komplexního civilizačního onemocnění zatím nebyly jeho skutečné příčiny objasněny. Níže jsou zmíněna endokrinní onemocnění s polygenním typem dědičnosti, kdy je uveden jen velmi stručný přehled současných poznatků týkajících se jejich genetické podstaty a naše vlastní zkušenosti.

Tab. 1. Asociační studie studovaných polymorfizmů kandidátních genů

Gen	běžný název	studovaný polymorfismus	genotypované soubory	citace
<b>MODY geny a transkripční faktory ovlivňující vývoj pankreatu</b>				
GCK	glukokináza	skřínink celého genu včetně promotoru, G-30A	D, PD, G, PCOS, K	22, 23
<i>HNF1alfa</i>	hepatocytární nukleární faktor 1alfa	skřínink celého genu, A98V	D, PD, G, K	24
<i>HNF1beta</i>	hepatocytární nukleární faktor 1beta	skřínink celého genu včetně promotoru	D s nefropatií	25
<i>Ngn3</i>	neurogenin 3	skřínink celého genu	D, PD, K, G	26
<i>NeuroD1</i>	neurogenic differentiation 1	Ala45Thr, Pro197His	D, K	27
<i>Pax4</i>	paired box gene 4	Arg121Trp	G	
<b>Geny ovlivňující sekreci a působení inzulínu</b>				
<i>INS</i>	inzulín	5'VNTR: -23A/T (HphI)	D, PD, G, K, PCOS	28, 29
<i>KCNJ11</i>	Kir6.2 podjednotka ATP senzitivního kalciového kanálu	E23K	D, PD, G, K, PCOS	30-32, 39
<i>LRP5</i>	low density lipoprotein receptor related protein 5	A1330V (C/T)	D, PD, PCOS, K, OST	33
<i>INSR</i>	inzulínový receptor	1058 T/C	D, PD, K, PCOS	
<i>CAPN10*</i>	Calpain 10	SNP41, SNP43, haplotyp a další polymorfizmy	D, K	34
<b>Geny ovlivňující energetický metabolismus a metabolismus lipidů</b>				
<i>PPARG</i>	peroxizomovými proliferátory aktivovaný receptor $\gamma$ 2	Pro12Ala, Pro115Glu	D, PD, G, PCOS, K, O	30, 35-38
<i>PPARA</i>	peroxizomovými proliferátory aktivovaný receptor $\alpha$	L162V	O	
<i>PGC1</i>	koaktivátor PPAR $\gamma$ 2	Gly482Ser	D, PD, PCOS, K	
<i>UCP1</i>	uncoupling protein 1	A-3826G	D, PD, PCOS, K, O	38
<i>UCP2</i>	uncoupling protein 2	G-866A	D, PD, G, K, O	32, 39
<i>ADRB2</i>	$\beta$ 2-adrenergní receptor	Gln27Glu	D, PD, K	
<i>ADRB3</i>	$\beta$ 3-adrenergní receptor	Trp64Arg	D, PD, K	40
<i>NMDB</i>	neuromedin beta	Pro73Thr	D, PD, K, O, PCOS	
<i>LEPR</i>	leptinový receptor	Gln223Arg, Pro1019Pro, Ser343Ser	O	
<i>MC4R</i>	receptor pro melanokortin 4	skřínink celého genu	O	
<i>POMC</i>	proopiomelanokortin	skřínink celého genu	O	
<i>ApoE</i>	apolipoprotein E	Epsilon 2, 3, 4	D, PD, K, PCOS, O, OST	50
<i>ApoB</i>	apolipoprotein B	3'VNTR	D, K	41
<i>FABP2</i>	FABP2 – vazebný protein pro mastné kyseliny (střevní typ)	Ala54Thr	D, PD, G, K, O	
<i>CETP</i>	cholesteryl ester transfer protein	TaqIB	D	
<b>Geny účastné v biosyntéze a účinku androgenů</b>				
<i>CYP11A</i>	P450 cholesterol side chain cleavage enzyme	5'(TTTA)n	PCOS, K	
<i>AR</i>	androgenní receptor	(CAG)n	PCOS, K	
<i>SHBG</i>	sexuální hormony vázající globulin	Asp327Asn, Pro156Leu	PCOS, K	42
<b>Geny ovlivňující metabolismus kosti</b>				
<i>LRP5</i>	low density lipoprotein receptor related protein 5	A1330V (C/T)	OST	43
<i>COL1A1</i>	kolagen typ I, alfa 1	Sp1	OST	44
<i>VDR</i>	receptor pro vitamin D	FokI, BsmI, TruI, ApaI a TaqI	OST	45, 46
<i>CASR</i>	calcium sensing receptor	Intron 5 C/T, A986S	OST	47
<i>CALCR</i>	receptor pro kalcitonin	C1377T	OST	48
<i>ESR-alfa</i>	estrogenní receptor alfa	XbaI, PvuII	OST	49
<i>OPG</i>	osteoprotegerin	A163G, T245G, G1181C	OST	20

Soubory: D – diabetici 2. typu (n=402), PD – potomci diabetiků 2. typu (n=177), K – kontrolní soubor (n=355), G – gestační diabetičky (n=180), PCOS – pacientky se syndromem polycystických ovarií (n=317), O – obézní pacienti (n=582), OST – postmenopauzální pacientky s osteoporózou (n=532); n – počty jedinců v souborech k 30.11.2006

Pozn.: Genotypizace byly prováděny postupně, takže ne všichni pacienti uvedených souborů mají stanoveny všechny polymorfizmy.

\* Možná funkce CAPN10 (cysteinové proteázy) v patogenezi DM2 není dosud příliš objasněna.

## PŘÍKLADY ENDOKRINNÍCH POLYGENNĚ DETERMINOVANÝCH ONEMOCNĚNÍ

### *Diabetes mellitus 1. typu (DM1)*

DM1 je způsoben autoimunitní destrukcí beta buněk pankreatu, který není schopen produkovat inzulín. Na vzniku DM1 se podílejí jak genetické faktory (konkordance MZ dvojčat cca 40 %), tak faktory prostředí (infekce, chemické toxiny aj.) (5). DM1 nejsilněji asociuje s lokusem MHC (major histocompatibility complex), zejména heterozygoti pro DR3/DR4 jsou náchylní k DM1. Podrobnější genetická analýza odhalila rizikové alely HLA II. třídy (6). Na vzniku onemocnění se podílejí i další lokusy, zatím nejvíce studován byl lokus v promotorové oblasti inzulínového genu (*INS VNTR*), kdy zvýšený výskyt krátkých alel třídy I je spojen se zvýšeným rizikem DM1.

Genetice diabetes mellitus 1. typu se věnují odborníci především na Pediatrické klinice 2. LF UK a FNM (MUDr. O. Cinek, Ph.D. a kol.). My jsme studovali variabilitu alel HLA II. třídy u vzácného souboru dospělých pacientů s diabetes mellitus 1. typu, kompletovaného doc. MUDr. K. Vondrou, DrSc., u nichž byla zároveň přítomna autoimunitní tyreopatie. V tomto souboru se nepodařilo vzhledem k obrovské variabilitě HLA alel vysledovat asociaci onemocnění s genotypem HLA DQA1, DQB1 či HLA DRB1 (7, 8).

### *Diabetes mellitus 2. typu (DM2)*

Genetické pozadí běžných forem DM2 je oproti DM1 ještě mnohem více zahaleno tajemstvím. Studováno bylo více než 300 kandidátních genů. Metaanalýzy naznačují signifikantní asociaci DM2 se dvěma z nich. Riziko diabetu mírně ovlivňuje polymorfismus Pro12Ala genu *PPAR $\gamma$ 2* (centrální transkripční faktor ovlivňující transkripci mnoha genů, které hrají roli v diferenciaci adipocytů, lipidovém metabolismu, inzulínové senzitivitě, apoptóze atd.), a polymorfismus E23K genu *KCNJ11*, který kóduje podjednotku sulfonyleurového receptoru a ovlivňuje sekreci inzulínu. V roce 2001 byl odhalen pomocí vazebné analýzy kandidátní gen *CAPN10*, kódující ubikvitární cysteinovou proteínázu calpain 10. Původní euforie byla vystřídaná rozpačitými výsledky následných asocičních studií (9, 10).

Genetice DM2 se věnujeme již více než 10 let. Za tímto účelem shromažďujeme rozsáhlé a co nejpodrobněji fenotypicky charakterizované soubory nejen diabetiků 2. typu, ale i potomků diabetiků a kontrol, ve spolupráci s ÚPMD (MUDr. K. Andělová) kompletujeme i kohortu gestačních diabetiček. Pro potřeby tohoto genetického výzkumu využíváme zejména metod DNA analýzy (11): PCR-RFLP, skříninkových metod (SSCP či TGGE) a přímé sekvenace. Byla genotypována řada polymorfizmů vybraných kandidátních genů (tab. 1) a studován jejich možný vliv na rozvoj DM2 a jeho komplikací, na rozvoj gestačního diabetu a v širším slova smyslu metabolického syndromu (22–27, 29–32, 34, 35, 38–41). Byla získána prioritní data týkající se frekvencí těchto polymorfizmů v české populaci. I když byly nalezeny některé asociace polymorfizmů s antropometrickými či klinicko-biochemickými parametry, zdá se, že vliv studovaných polymorfizmů je v patogenezi DM2 a metabolického syndromu u české populace spíše minoritní.

### *Obezita*

Vzhledem k alarmujícímu nárůstu prevalence obezity se intenzivně pátrá po jejích příčinách. I když se špatná životospráva podepisuje na vzniku obezity významnou měrou, familiární studie a studie dvojčat naznačují, že obezita a ji charakterizující kvantitativní znaky (např. body mass index – BMI, množství tuku apod.) jsou silně geneticky podmíněny. Díky studiu genetického pozadí obezity byla objevena řada do té doby neznámých adipocytárních hormonů (leptin, adiponektin, rezistin). Byly detekovány monogenní formy obezity, kdy v případě deficitu leptinu v důsledku genové mutace bylo možno postiženým morbidně obézním dětem aplikovat účinnou terapii (podávání exogenního leptinu). Tyto monogenní formy jsou však příčinou obezity u zlomku pacientů. Také v případě běžné obezity byly testovány stovky kandidátních genů (<http://obesitygene.pbr.edu/cgi-bin/ace/mainMenu.cgi>), z nichž nejnadějnější se zatím zdá být melanokortinový receptor (MC4R), jehož mutace jsou zodpovědné údajně až za 4% morbidní obezity mladistvých (12, 13).

Vzhledem k tomu, že v rámci ústavu pracuje obezitologické centrum (doc. MUDr. V. Hainer, CSc., prim. MUDr. M. Kunešová, CSc.) s rozsáhlou klientelou, zaměřili jsme se na výzkum genetického pozadí obezity. Studujeme vybrané rizikové polymorfizmy (tab. 1) u pacientů s běžným typem obezity i u morbidně obézních, a to jak dospělých, tak u dětské populace (14, 35–38, 40). Skrínujeme i geny, jejichž mutace jsou příčinou monogenních forem obezity (leptinový receptor, MC4R či POMC).

### *Syndrom polycystických ovarií*

Syndrom polycystických ovarií (PCOS) je jednou z nejčastějších endokrinopatií u žen ve fertilním věku. Typické jsou vysoké hladiny sérových androgenů, spojené s poruchami menstruačního cyklu a fertility, dalším častým průvodním znakem PCOS, zejména u obézních žen, jsou poruchy sekrece a působení inzulínu. V patogenezi PCOS hrají genetické faktory důležitou roli. Endokrinní a metabolické cesty, které se uplatňují v patogenezi PCOS, jsou kontrolovány řadou známých genů, které lze rozdělit do 4 skupin: 1) geny účastné v biosyntéze a metabolismu androgenů; 2) geny ovlivňující folikulogenezi; 3) geny účastné v sekreci a působení inzulínu a 4) geny uplatňující se při regulaci energetické rovnováhy. Svou roli v patogenezi onemocnění mohou však hrát i méně „klasické“ geny, jako například geny kódující faktory účastnící se v chronické zánětlivé reakci (TNF $\alpha$ , IL-6). Nejslibnějším kandidátním genem se zdál být gen pro enzym štěpící postranní řetězec cholesterolu (*CYP11A*), což by svědčilo pro primární poruchu steroidogeneze, nicméně nedávná studie provedená na rozsáhlém souboru asociaci VNTR polymorfizmu *CYP11A* genu s PCOS a s hladinami androgenů nepotvrdila. Výsledky studia i řady dalších studovaných genů jsou kontroverzní a je potřeba je ověřovat (15, 16).

MUDr. J. Vrbíková, Ph.D. se dlouhodobě věnuje studiu syndromu polycystických ovarií. Podařilo se již zkompletovat natolik rozsáhlý soubor pacientek, že je možno provádět genetické asociční studie (tab. 1) (28, 42). Prioritní výsledky jsme zjistili u polymorfizmu genu LRP5 (koaktivátor Wnt signální kaskády), kdy nositelky alely T měly signifikantně vyšší hladiny C-peptidu a proinzulínu oproti nositelkám běžné alely C (33), což by poukazovalo na roli LRP5 genu v sekreci beta buněk.

### Hypertenze

U několika vzácných monogenních onemocnění spojených s hypertenzí je známa genetická příčina, jako je například aldosteronismus a Liddleův syndrom, které lze výborně cíleně léčit glukokortikoidy, resp. amiloridem. U esenciální hypertenze zatím neznáme příčinné geny. Z hlediska možnosti cílené terapie jsou nadějně polymorfizmy genů kódujících angiotenzinogen a angiotenzin-konvertující enzym (17, 18).

Ve spolupráci s MUDr. D. Palyzovou, CSc. (Klinika dětí a dorostu 3. LF UK a FNKV) a MUDr. V. Kožichem, CSc. (ÚDMP, 1. LF UK) jsme se zúčastnili studie, která byla zaměřena na patogenezi esenciální juvenilní hypertenze. Byly studovány varianty genů účastných v methioninovém cyklu (19).

### Osteoporóza

Nejen denzita kostního minerálu (BMD – bone mineral density), ale i metabolický kostní obrat, geometrie a mikroarchitektura kosti spolu s rizikem zlomenin jsou významně geneticky podmíněny (20). Vazebné studie odhalily několik případů, kdy se vysoká nebo naopak nízká BMD dědí jednoduše mendelovsky. Příkladem jsou onemocnění, jako jsou osteogenesis imperfecta, osteopetróza, osteoporóza v důsledku inaktivujících mutací aromatázy, či mutací receptoru pro estrogeny (20). Vazebná analýza rozsáhlého rodokmenu s velmi vysokou spinální BMD lokalizovala lokus na chromozómu 11 (11q12–13). Jako gen zodpovědný za tuto vazbu byl později identifikován gen pro *LRP5* (20). Inaktivační mutace v tomto genu vedou k osteoporóze pouze u zlomku pacientů. Mezi nejslibnější patří asociace BMD a osteoporotických zlomenin s jednonukleotidovým polymorfizmem genu *COL1A1* (kóduje kolagen typu I,  $\alpha 1$ ) v místě jeho interakce s transkripčním aktivátorem Sp1, kterou potvrdila recentní prospektivní metaanalýza (20). Intenzivně byly studovány i mutace genu kódujícího receptor pro vitamin D, který hraje významnou roli v metabolismu vápníku. Přes diskrepantní výsledky mnohých studií nové práce podporují asociaci polymorfizmů v receptoru pro vitamin D s rizikem vertebrálních fraktur a s odpovědí BMD na antiresopční léčbu (21). I když je klinický význam testování těchto polymorfizmů zatím sporný, cílený terapeutický zásah, který by posílil aktivitu tohoto signálního systému v případě jeho genetického defektu, by mohl být velmi prospěšný (20).

Prof. I. Žofková, DrSc. a MUDr. K. Zajíčková, Ph.D. kompletují soubor žen s osteoporózou. Studovány byly varianty genu *COL1A1*, *LRP5*, *OPG*, receptoru pro vitamin D, receptoru pro calcitonin, calcium sensing receptor, estrogenní receptor alfa a polymorfizmus Apo E (43–50).

### ZÁVĚR

Studium genetických příčin polygenně determinovaných endokrinopatií je pro genetiky velkou výzvou. Je stále zřejmější, že za běžné formy těchto onemocnění není zodpovědný jeden nebo několik majoritních genů, ale vědci se již smiřují s tím, že je třeba trpělivě sestavovat mozaiku tvořenou jak genetickými kameny, tak souborem vnějších faktorů. Díky masovějšímu využívání vysokokapacitních molekulár-

ně genetických technik, metod expresní analýzy a proteomiky jde však výzkum rychle kupředu. Velká pozornost se ale musí věnovat velikosti studovaných souborů a pečlivé charakterizaci pacientů a kontrol.

Optimální budou longitudiální studie, s přesnou charakterizací výchozího stavu. Rozsáhlé studované soubory pacientů a kontrol, s podrobně a přesně kvantifikovanými parametry životního stylu, by měly být průběžně dlouhodobě sledovány. Tyto typy studií jsou sice už plánovány, ale potrvá mnoho let, než budou dostatečně rozsáhlé. Do té doby se musíme spokojit s multikohortními studii, které již byly založeny v minulosti.

### Zkratky

BMD	– denzita kostního minerálu (bone mineral density, g/cm <sup>2</sup> )
BMI	– body mass index (kg/m <sup>2</sup> )
DZ	– dizygotní
HLA	– lidské leukocytární antigeny (human leukocyte antigens)
FNM	– Fakultní nemocnice Motol
h <sup>2</sup>	– heritabilita
LOD	– logarithm of the odds (logaritmus šancí)
MC4R	– melanokortinový receptor
MZ	– monozygotní
MHC	– major histocompatibility complex
FNKV	– Fakultní nemocnice Královské Vinohrady
PCOS	– syndrom polycystických ovarií
PCR	– polymerázové řetězová reakce (polymerase chain reaction)
RFLP	– polymorfizmus délky restrikčních fragmentů (restriction fragment length polymorphism)
SSCP	– polymorfizmus jednořetězových fragmentů (single strand chain polymorphism)
TGGE	– teplotní gradientová gelová elektroforéza (temperature gradient gel electrophoresis)
ÚDMP	– Ústav dědičných metabolických poruch
ÚPMD	– Ústav pro péči o matku a dítě
VNTR	– variabilní počet tandemových repetitiv (variable number of tandem repeats)

### LITERATURA

- Lamberts, S. W. J., Romijn, J. A., Wiersinga, W. M.: The future endocrine patient. Reflections on the future of clinical endocrinology. *Eur. J. Endocrinol.*, 2003, 149, s. 169-175.
- Emilien, G., Ponchon, M., Caldas, C. et al.: Impact of genomics on drug discovery and clinical medicine. *Q. J. Med.*, 2000, 93, s. 391-423.
- Nussbaum, R. L., McInnes, R. R., Willard, H. F. et al.: Klinická genetika. 1. vydání, Praha, Triton, 2004, 426 s.
- McCarthy, M. I., Froguel, P.: Genetic approaches to the molecular understanding of type 2 diabetes. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2002, 283, s. E217-E225.
- Daneman, D.: Type 1 diabetes. *Lancet*, 2006, 367, s. 847-858.
- Cinek, O., Koloušková, S., Šnajderová, M. et al.: HLA class II genetic association of type 1 diabetes mellitus in Czech children. *Pediatr. Diabetes*, 2001, 2, s. 98-102.
- Dvořáková, K., Vondra, K., Bendukidze, N. et al.: Does HLA-DRB1-DQA1-DQB1 genotype contribute to chronic autoimmune thyroiditis development in adult patients with diabetes mellitus type 1? *Endocrine Abstracts*, 2002, 5, s. P267.

8. **Vondra, K., Vrbíková, J., Bendlová, B. et al.:** Differences in type I diabetes mellitus of young adults with and without thyroid autoimmunity. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 2005, 113(7), s. 404-408.
9. **Barroso, I.:** Genetics of type 2 diabetes. *Diabet. Met.*, 2005, 22, s. 517-535.
10. **O'Rahilly, S., Barroso, I., Wereham, N. J.:** Genetic factors in type 2 diabetes: the end of the beginning. *Science*, 2005, 307, s. 370-373.
11. **Bendlová, B., Včelák, J.:** DNA diagnostika. In: Kreze, A., Langer, P., Klimeš, I. et al. (eds.). *Všeobecná a klinická endokrinologie*. Bratislava, Academic Electronic Press, 2004, s. 92-100.
12. **Bendlová, B., Hainer, V.:** Metody genetického vyšetření u obézních – současnost a perspektivy. In: Hainer, V. (ed.). *Základy klinické obezitologie*. Praha, Grada Publishing, 2004, s. 109-119.
13. **Paracchini, V., Pedotti, P. et al.:** Genetics of leptin and obesity: a HuGE review. *Am. J. Epidemiol.*, 2005, 162, s. 101-114.
14. **Hainer, V., Bendlová, B., Aldhoon, B., Hainerová, I.:** Úloha genetických faktorů v patogenezi a léčbě obezity. *DMEV*, 2006, 9 (Suppl. 1), s. 56-64.
15. **Bendlová, B.:** Genetika syndromu polycystických ovárií. In: Cibula, D., Stárka, L., Vrbíková, J. (eds.) *Syndrom polycystických ovárií*. Praha, Maxdorf Jessenius, 2004, s. 34-42.
16. **Escobar-Morrone, H. F., Luque-Ramirez, M., San-Millan, J. L.:** The molecular-genetic basis of functional hyperandrogenism and the polycystic ovary syndrome. *Endocrinol. Rev.*, 2005, 26, s. 251-282.
17. **Yagil, Y., Yagil, C.:** The search for the genetic basis of hypertension. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 2005, 14, s. 141-147.
18. **Agrawal, A., Williams, G. H.:** Genetics of human hypertension. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2005, 16, s. 127-133.
19. **Kahleová, R., Palyzová, D., Zvára, K. et al.:** Essential hypertension in adolescents: association with insulin resistance and with metabolism of homocysteine and vitamins. *Am. J. Hypertension*, 2002, 15, s. 857-864.
20. **Ralston, S. H., Crombrughe, B.:** Genetic regulation of bone mass and susceptibility to osteoporosis. *Genes Dev.*, 2006, 20, s. 2492-2506.
21. **Uitterlinden, A. G.:** The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis. *GENOMOS Study. Ann. Intern. Med.*, 2006, 145, s. 255-264.
22. **Lukášová, P., Včelák, J., Šrámková, D. et al.:** A newly detected mutation in the glucokinase gene in a Czech family with maturity-onset diabetes of the young. *Diabetologia*, 2005, 48 (Suppl. 1), s. 312, A118.
23. **Šamalíková, P., Včelák, J., Bendlová, B.:** MODY (maturity diabetes of the young) – nové poznatky o kandidátních genech. *DMEV*, 2002, 5, s. 11-18.
24. **Selisko, T., Schwarz, P. E. H., Včelák, J. et al.:** Mutations in HNF1-alpha as a risk factor for gestational diabetes. *Diabetologia*, 2001, 44 (Suppl. 1), s. 341, A89.
25. **Selisko, T., Včelák, J., Bendlová, B. et al.:** Mutations and intronic variants in the HNF1beta gene in a group of German and Czech Caucasians with type 2 diabetes mellitus and progressive diabetic nephropathy. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 2002, 110, s. 145-147.
26. **Bendlová, B., Včelák, J., Vaňková, M. et al.:** Association of neurogenin 3 polymorphisms with insulin secretion. *Diabetologia*, 2006, 49 (Suppl. 1), s. 384, A0632.
27. **Cinek, O., Dřevínek, P., Bendlová, B. et al.:** The NEUROD 1 polymorphism Ala45Thr is associated with Type 1, but not with Type 2 diabetes mellitus in the Czech population. *Diabetologia*, 2002, 45 (Suppl. 2), s. 344, A114.
28. **Vaňková, M., Vrbíková, J., Hill, M. et al.:** Association of Insulin gene VNTR polymorphism with polycystic ovary syndrome. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2002, 967, s. 558-565.
29. **Matějková-Běhanová, M., Vaňková, M., Kučera, P. et al.:** Polymorphism of INS VNTR is associated with GADA and postprandial C-peptide in patients with diabetes onset after 35 years of age. *Physiological Research*, 2003, 53, s. 187-190.
30. **Vejražková, D., Bendlová, B.:** Dva nadějně kandidátní geny v etiopatogenezi diabetes mellitus 2. typu – PPAR $\gamma$ 2 a KCNJ11. *Čas. Lék. čes.*, 2005, 144, s. 721-725.
31. **Šrámková, D., Vaňková, D., Šamalíková, P. et al.:** The Kir6.2 gene E23K SNP in relation to DM2 in Czech population. *Int. J. Obesity*, 2004, 28 (Suppl. 1), s. T3: P3-025.
32. **Vejražková, D., Vaňková, M., Lukášová, P. et al.:** The KCNJ11 E23K and UCP2 G-866A SNPs in relation to DM2 in Czech population. *Endocrine Abstracts*, s. 11: P386.
33. **Bendlová, B., Zemanová, A., Hill, M. et al.:** LRP5 C/T polymorphism in exon 18 is associated with insulin secretion in polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril* (v oponentním řízení).
34. **Tsuchiya, T., Schwarz, P. E. H., del Bosque-Plata, L. et al.:** Association of the calpain-10 gene with type 2 diabetes in Europeans: Results of pooled and meta-analyses. *Mol. Genet. Metab.*, 2006, 89, s. 174-184.
35. **Šrámková, D., Kunešová, M., Hainer, V. et al.:** Is a Pro12Ala polymorphism of the PPAR gamma 2 gene related to obesity and type 2 diabetes mellitus in the Czech population? *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2002, 967, s. 265-273.
36. **Aldhoon, B., Hainer, V., Bendlová, B. et al.:** PPARgamma polymorphism in obesity: weight-loss maintenance, psychobehavioral indexes and energy intake during 4-year follow-up. *Int. J. Obesity*, 2004, 28 (Suppl. 1), s. T3: P3-001.
37. **Kunešová, M., Hainer, V., Obenberger, J. et al.:** Relations of hormonal and metabolic parameters to intraabdominal and subcutaneous abdominal adipose tissue in obese women. Influence of Pro12Ala PPAR gamma polymorphism on adipose tissue distribution. *Obesity Research*, 2001, 9 (Suppl. 3), s. 67.
38. **Šrámková, D., Krejbichová, Š., Včelák, J. et al.:** The UCP1 gene polymorphism A-3826G in relation to type 2 diabetes mellitus and body composition in Czech population. *Exp. Clin. Endocrinol. Diab.*, 2006 (v tisku).
39. **Šrámková, D., Vaňková, M., Šamalíková, P. et al.:** Polymorfismy E23K genu KCNJ11 a G-866A genu UCP2 ve vztahu k DM2 u české populace. *Interná Medicína*, 2004, 4 (Suppl.), S3: 41S.
40. **Bendlová, B., Mazura, I., Včelák, J. et al.:** Mutace beta3-adrenergního receptorového genu (Trp64Arg) nemá vliv na inzulinovou rezistenci, energetický výdej, distribuci tuků a lipidové spektrum u mladistvých - pilotní studie. *Vnitř. Lék.*, 1999, 45, s. 267-272.
41. **Mazura, I., Bendlová, B., Vaňková, M. et al.:** Genetic variation at the apo B 3 $\epsilon$ VNTR in Czech General population and in Czech diabetes mellitus type II patient group. *Journal of Human Ecology*, 2000, 12, s. 19-24.
42. **Bendlová, B., Zavadilová, J., Vaňková, M. et al.:** Role of D327N sex hormone-binding globulin gene polymorphism in the pathogenesis of polycystic ovary syndrome. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*, 2007, 104 (v tisku).
43. **Zajíčková, K., Hill, M., Vaňková, M., Žofková, I.:** Low density lipoprotein receptor-related protein 5 and vitamin D receptor gene polymorphism in relation to vitamin D levels in menopause. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2006, 44, s. 1066-1069.
44. **Zajíčková, K., Žofková, I., Hill, M.:** Is the Sp1 polymorphism in the COL1A1 gene a risk factor for postmenopausal osteoporosis? Comment on the article by Keen et al. *Arthritis Rheum.*, 2002, 46, s. 2828-2829.

45. **Zajíčková, K., Žofková, I., Hill, M.:** Vitamin D receptor gene polymorphisms, bone ultrasound and mineral density in postmenopausal women. *Aging Clin. Exp. Res.*, 2005, 17, s. 121-124.
46. **Žofková, I., Hill, M., Zajíčková, K.:** Dehydroepiandrosterone status in postmenopausal women determined by the gene for vitamin D. *Horm. Metab. Res.*, 2002, 34, s. 127-131.
47. **Žofková, I., Zajíčková, K., Hill, M., Vaňková, M.:** Role of intron 5 C/T polymorphism of the calcium sensing receptor gene in the regulation of the serum FSH and LH in postmenopausal women. *J. Endocrinol. Invest.*, 2005, 28, s. 638-642.
48. **Žofková, I., Zajíčková, K., Hill, M.:** Postmenopausal serum androstendione levels are associated with the calcitonin receptor gene polymorphism T1377c. A pilot study. *J. Endocrinol. Invest.*, 2004, 27, s. 442-444.
49. **Žofková, I., Zajíčková, K., Hill, M.:** The estrogen receptor alpha gene determines serum androstendione levels in postmenopausal women. *Steroids*, 2002, 67, s. 815-819.
50. **Zajíčková, K., Žofková, I., Hill, M. et al.:** Apolipoprotein E 4 allele is associated with low bone density in postmenopausal women. *J. Endocrinol. Invest.*, 2003, 26, s. 31-44.

*Děkujeme všem dobrovolníkům, kteří si v dnešní uspěchané době udělali čas a zúčastnili se našich výzkumných studií. Také děkujeme sestřám, laborantkám a studentům za jejich pilnou a pečlivou práci.*

*Práce jsou podporovány granty IGA MZ ČR NR/7809-5, NR/7800-4, NR/7827-3, NR/7782-4 a GA ČR 301/04/1085.*

**Klener, P. et al.:**  
**VNITŘNÍ LÉKAŘSTVÍ**

*Praha, Galén a Univerzita Karlova, 2006, třetí, přepracované a doplněné vydání, 1158 s. ISBN 80-7262-430X (Galén), 80-246-430X (Karolinum).*

S velkým zájmem jsem listoval touto, dnes už vlastně klasickou učebnicí vnitřního lékařství, a to i přesto, že nejsem lékař. Měl jsem možnost srovnat toto třetí přepracované a doplněné vydání s vydáním předchozím z roku 2001. Velice oceňuji, že se hlavnímu autorovi podařilo v tomto vydání ujednotit styl jednotlivých kapitol, které byly pochopitelně zpracovány specialisty. Není jednoduchým úkolem sjednotit celkové pojetí textu, jeho rozsah a styl 71 spoluautorů!

Protože jsem biochemik a pracuji zejména v oboru molekulární biologie, zajímal jsem se především, jak jsou v knize zpracovány partie věnované těmto

**KNIHY**

aspektům. Asi nelze pochybovat o tom, že moderní medicína je prostoupena poznatky výzkumu v oblastech biochemie a molekulární a buněčné biologie. Mnoho současných diagnostických postupů je založeno na znalosti lidského genomu a pochodů regulujících genovou expresi. A to jsme teprve na začátku dlouhé cesty porozumění naší genetické informaci. Genová terapie například nespĺnila zatím očekávání odborníků, je ale prakticky jisté, že v budoucnu se prosadí. I proto je důležité připravovat nové generace lékařů na příchod nových metod, založených i na těchto pokročilých molekulárních přístupech.

Hlavní autor a pořadatel knihy, profesor MUDr. Pavel Klener, DrSc. se spolehl na osvědčené spoluautory a přibral do autorského týmu i nové odborníky. Podařilo se jim publikovat moderní text, který respektuje vývoj medicíny, mj. právě v těch výše uvedených vědních oblastech. Velmi vhodné je například pojednání o lékařských

databázích, metodách práce s databázemi a o využití internetu pro práci s odbornou literaturou. Stálo by za to tuto kapitolu v budoucích vydáních rozšířit. Užitečný je také souhrn zásad laboratorní diagnostiky včetně tabulek referenčních hodnot.

Knihla sleduje osvědčené členění. V části obecné jsou kapitoly o historii vnitřního lékařství, příznacích vnitřních chorob, o obecné a klinické farmakologii, klinické onkologii, imunologii, molekulární a buněčné biologii, genetice, geriatrii a rehabilitaci a fyzikální terapii. Část speciální je navýsost odborná a nepřísluší mi ji hodnotit.

Knihla potvrzuje, jak je účinné připravovat doplněná a postupně dopracovávaná nová vydání. Toto třetí vydání je lepší než vydání předchozí a nepochybuji o tom, že další vydání budou lepší než toto třetí vydání. Autorům v tom přeji úspěch.

*Václav Pačes*  
*117 20 Praha I, Národní 3*



## PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

## Léčba růstovým hormonem v Endokrinologickém ústavu

Kalvachová B., Dvořáková M., Lisá L.

Endokrinologický ústav, Praha

## SOUHRN

Pediatrickým centrem pro léčbu růstovým hormonem se Endokrinologický ústav v Praze stal v roce 1993, kdy stávající kohorta léčených dětí sem byla převedena z dětské kliniky IPVZ FTN, centrem pro léčbu dospělých se stal pak v roce 2004. Ke konci roku 2006 činí celkový počet (od)lčených 408 pacientů. Jejich indikační výběr vychází z mezinárodně platných klinických i laboratorních kritérií, léčba samotná je pravidelně kontrolována v tříměsíčních intervalech a je standardně evidována v nadnárodních protokolech. Zdravotní pojišťovny tuto finančně náročnou léčbu plně hradí. Účinnost léčby růstovým hormonem u dětí z jakékoli indikace nejlépe dokumentuje růstová rychlost, benefit je zjišťován i v dalších ukazatelích klinických i laboratorních. U dospělých jsou kritérii úspěšnosti parametry metabolické, zvýšení netukové tělesné a kostní hmoty a zlepšení kvality života subjektivně hodnocené. Naše zkušenosti s léčbou růstovým hormonem jsou natolik dobré, že 80 % dětí hodnotíme jako léčené úspěšně. Nežádoucí účinky léčby jsme nezaznamenali v žádném případě, k předčasnému ukončení léčby jsme přistoupili u 4 dětí. Zpestření léčby formou táborů, víkendových akcí a společenských setkání pacientů přispívá k bližšímu seznámení a vzájemné spolupráci s dětskými pacienty.

**Klíčová slova:** růstový hormon, indikace.

## SUMMARY

*Kalvachová B., Dvořáková M., Lisá L.: Growth Hormone Treatment in the Institute of Endocrinology*  
Institute of Endocrinology became a pediatric center for growth hormone treatment in 1993, after the existing cohort of children treated in the Department of Pediatrics of the Postgraduate Medical School (IPVZ, FTN) had been transferred here. In 2004 it became also a center for adults. At the end of 2006 the total number of those, who underwent the treatment amounted to 408 patients. Their indications come out of internationally observed clinical and laboratory criteria while the treatment itself is regularly controlled in the 3-months periods. It is also a matter of standardized evidence in international protocols. Our insurance covers that financially demanding treatment completely. As the best criterion for the growth hormone efficacy in children we follow the growth velocity, the benefit is however perceived in other clinical and laboratory indices as well. In adults the success criteria are metabolic parameters, the increase of non-fatty body mass, increase of bone density and improvement of subjective quality of life. Our experience in growth hormone treatment is propitious, with 80% of children evaluated as successful. No adverse events has been ever registered; the before time discontinuation of treatment has been decided only four times. Intermittent summer camps, weekend activities and social meetings of patients contribute to the good compliance and collaboration.

**Key words:** growth hormone, indications.

Ka.

Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 205–209.

**R**ůstový hormon (somatotropin, growth hormone – GH) – polypeptid o známé sekvenci 191 aminokyselin je tvořen a skladován somatotropními buňkami předního laloku hypofýzy. Jeho uvolňování do oběhu je pulzní a má cirkadiánní rytmus. Během dne kolísá v různě velké amplitudě v reakci na metabolické a hormonální stimuly. Po usnutí, zejména v první polovině noci, jsou sekreční vzestupy hladin vysoké. Jeho tvorba má také životní rytmus, nejvyšší je v období růstu a zejména puberty, s postupujícím věkem klesá u obou pohlaví a ve stáří je nízká. Bezprostředním stimulem sekrece GH je hypotalamický somatoliberin (growth hormone releasing hormone – GHRH), inhibítorem somatostatín. Oba tyto konečné mediátory jsou výslednicí

poselství mnoha neurotransmiterů a vazeb nejen v suprahypotalamické oblasti. Kromě GHRH existují skupiny látek, které jsou také schopné stimulovat uvolnění GH, nazývají se růstový hormon uvolňující peptidy (GHRP) a sekretagoga růstového hormonu (GHS), mezi které patří i nedávno objevený ghrelin.

Působení GH v organizmu je jednak krátkodobé a přímé, kdy spoluovlivňuje především metabolické pochody a jednak dlouhodobé, zařazené do růstové kaskády GH a interhormonálních vazeb. Dosud známé biologické účinky GH a jeho fragmentů uvádí tabulka 1 (1, 2).

**Chybění GH u dětí** se projeví především významným zpomalením růstové rychlosti a v pubertě také poruchami

**Tab. 1.** Biologické účinky růstového hormonu (GH) a jeho fragmentů

<p><b>Přímé:</b></p> <p>proteoanabolické lipolytické diabetogenní antinatriuretické termoregulační imunomodulační kardiovaskulárně protektivní ovlivňující remodelaci a hustotu kostní ovlivňující některé funkce CNS</p> <p><b>Nepřímé:</b></p> <p>růstové – v souhře s IGF I, IGF II, kalcitriolem, tyroidálními, sexuálními a dalšími hormony laktogení v rámci interhomonální souhry s gonadotropiny, inzulinem, leptinem a tyroidálními hormony regulace sexuálního vývoje a metabolismu</p>
---

mezihormonální souhry. U GH deficitních dětí nacházíme různé odstupňovanou disproporcionalitu postavy, další klinická manifestace závisí na příčině. Zejména genově podmíněné poruchy sekrece GH mohou být provázeny řadou stigmat a klinických projevů v důsledku přidruženého chybění i jiných pituitárních hormonů.

V praxi se setkáváme také s dětmi s poruchou růstové osy, kde není problémem sekreční neschopnost somatotropních buněk. Buď se jedná o defekt o etáž výše v rovině suprahypofyzární, takže chybí potřebný impuls, anebo v rovině periferní, kdy vážně tvorba inzulinu podobného růstového faktoru IGF-I anebo až postreceptorová odpověď v cílové buňce.

**Chybění GH u dospělých** je kauzálním faktorem zvýšeného rizika kardiovaskulární morbidity a mortality, poklesu aktivní tělesné hmoty a zvýšení tukové především v oblasti truncikální. Nedostatek GH přispívá k poklesu vitality, fyzické i psychické výkonnosti, k narušení subjektivního vnímání kvality života (deprese, podrážděnost, poruchy spánku) a k častějším problémům v sociálních vztazích a reprodukci (1).

### KDY A PROČ RŮSTOVÝ HORMON CHYBÍ?

Mezi **vrozené příčiny** patří poruchy anatomického vývoje hypotalamo–hypofyzárních struktur, poruchy funkční diferenciacie morfologicky vyvinuté hypofýzy a genově podmíněné defekty tvorby GH a receptorů. V nedostatečném vyžívání pituitárních buněčných linií, mezi kterými mají nejvyšší procentuální zastoupení somatotropní buňky (okolo 50 %), se významně uplatňují transkripční faktory PROP I a POU I F1 (PIT I). Jejich genové mutace jsou již známé, popsány u stovek pacientů a zahrnují různě kombinované pituitární deficity s postupnou manifestací. Izolovaný deficit sekrece GH má několik podtypů, příčinou je delece genu pro GH, který buď zcela chybí, nebo je ho velmi malé množství, případně je biologicky neúčinný. Když GH zcela chybí, dítě je v útlém věku ohroženo nebezpečnými

hypoglykémiami a substituční léčbu obvykle komplikuje vznik protilátek proti organizmu neznámé molekule exogenního GH (3). Nepříznivé **perinatální okolnosti** (porodní trauma, hypoxie) mohou být příčinou celoživotního chybění GH. Celé spektrum příčin nabízejí **postnatálně vzniklé** izolované nebo kombinované deficity GH, z nejčastějších nádory (kraniofaryngeomy, pinealomy, gliomy optiku či chiasmatu, u dospělých adenomy), poúrazové stavy, následky radiace nebo operačního zákroku, neuroinfekce a autoimunitní onemocnění ve smyslu izolované hypofyzitidy nebo jako součást autoimunitního polyglandulárního syndromu. V těchto případech jde v drtivé většině o funkční či anatomickou degeneraci původně fungujících somatotropních buněk.

Obvykle s přechodnými, tedy funkčními poruchami hypotalamo–hypofyzárních regulací, se pojí neurosekretorické dysfunkce GH, které mohou provázet např. hypotyreózu, anorexii, psychosociální deprivaci, depresi. V praxi se s nimi nejčastěji setkáváme při relativním deficitu sexuálních hormonů v rámci konstitučního opoždění růstu a vývoje v pubertě.

### DIAGNOSTIKA

Chybění GH lze předvídat u anamnesticky podezřelých jedinců ve spojení s růstovou diagnózou u dětí a dospívajících, u dospělých po zásahu ve středněčárové oblasti CNS a při výpadech jiných pituitárních hormonů.

**Endokrinologický diagnostický algoritmus** v případě odklonu růstové křivky **dítěte** pod dolní pásmo normálního rozmezí (lag–down fenomén) vychází ze stanovení cirkulující hladiny IGF-I, případně i jeho vazebného globulinu IGF BP3. Jsou-li nízké, minus 2 směrodatné odchylky od normy pro daný věk a pohlaví, ověřujeme sekreci GH pomocí stimulace standardizovanými testy. V Endokrinologickém ústavu provádíme běžně dva dynamické testy – clonidinový a inzulinový. Po nočním lačnění, v klidu na lůžku, po vyloučení akutního onemocnění, po odběrech nativních hladin zavádíme i.v. kanyl. Při clonidinovém testu vypije dítě testovací látku v sirupu (Catapresan 1 ml 1/2 ampule, pod 20 kg hmotnosti 1/4 ampule) a odběry následují ve 30. a 60. minutě. Může dojít k mírné hypotenzii, ospalosti a suchosti v ústech, příznaky jsou pouze přechodné. Při inzulinovém testu aplikujeme intravenózně rychlý inzulin (Actrapid HM) v dávce 0,05–0,1–0,15 j/ kg jako bolus, následné odběry glykémie zprvu po 15 min, poté po 5–10 min, GH ve 30., 60. a 90. minutě. Nižší dávky inzulinu volíme při podezření na kombinovaný hypopituitarizmus, vyšší u obézních dětí. K dostatečné stimulaci je nutné dosáhnout glykémie 2,2 mmol/l.

Kontraindikací inzulinového testu je epilepsie a křečové stavy v anamnéze, kardiální onemocnění a diabetes mellitus; v těchto případech volíme jiný test, např. pyridostigminový, glukagonový nebo argininový. Jde-li o dítě v peripubertálním věku, provádíme před těmito testy tzv. priming, který má odlišit zpomalení růstové rychlosti při chybění sexuálních hormonů od insuficience čistě somatotropní. Spočívá v podání 17 $\beta$ -estradiolu dívkám od 10 let, chlapcům od 12 let věku v dávce 1 mg/10 kg per os 2–3 dny před testem. Důležité je také předem vyšetřit tyroidální osu a případnou hypofunkci korigovat, protože ta může imitovat nedostatečný vzestup

GH. Pokud poststimulační vzestup hladin GH ověřený dvěma různými testy nevyhoví arbitrážním hodnotám normy (10 ng/ml, resp. 20 IU/ml), je klasifikován jako insuficientní, při dosažení polovičních hodnot jako deficitní.

Světové statistiky uvádějí, že u více než 50 % dětí, léčených v dětství pro nedostatek růstového hormonu, byla po retestování v dospělosti zjištěna již normální sekreční odpověď. Zda se pouze jednalo o dočasnou sekreční poruchu akcentovanou současným hypogonadizmem, či zda šlo také o neschopnost tvorby sekretagog, nebo odpovědi na ně, není známo.

Diagnostický postup u dospělých spočívá v testování sekreční rezervy GH inzulinovou hypoglykemií. U pacientů s ICHS, s křečemi a epilepsií v anamnéze a u starších 60 let volíme jiný test – argininový, glukagonový nebo testy kombinované. Má-li dospělý pacient splňovat současná kritéria mezinárodních doporučení k substituční léčbě, poststimulační hladina GH by neměla přesáhnout 3 ng/ml, resp. 6 IU/ml. Na rozdíl od dětských pacientů jednorázové stanovení IGF-I a IGF BP 3 nemá u dospělých samostatnou diagnostickou hodnotu (4).

### LÉČEBNÉ INDIKACE SOUČASNÉ

Již více než patnáct let jsou u nás rekombinantním růstovým hormonem (rhGH) léčeny **děti se somatotropní insuficiencí**. Za optimální u nich považujeme každodenní podkožní aplikaci v dávkovacím rozmezí 0,5–0,7 IU/kg/ týden, což odpovídá 0,025–0,033 mg/kg/den. Léčba se provádí doma, večer před spaním, injekční technika je průběžně zdokonalována a usnadňována, takže většina dětí si s injekcemi poradí sama. Dávkování je individuální a respektuje více faktorů než jen změny tělesných proporcí. Další léčenou skupinou jsou **dívky s Turnerovým syndromem (TS)**, u nichž nejde o deficit, spíše o dysfunkci GH a současně o sníženou schopnost odpovědi cílové tkáně v důsledku primární kostní dysplazie. Dlouhodobé zahraniční studie, s nimiž jsou v souladu i naše výsledky, potvrzují, že léčba rhGH vytváří předpoklad pro zlepšení finální výšky postavy v průměru o 12 cm. Vezmeme-li v úvahu skutečnost, že dospělá tělesná výška žen s neléčeným TS kolísá v rozmezí 135–150 cm, pak zisk rhGH léčby je vysoce žádoucí. Dávkování u TS je vyšší, odpovídá 1 IU/kg/týden (0,05 mg/kg/den) při každodenní aplikaci. Ukazuje se, že čím dříve je u těchto dívek léčba rhGH zahájena, tím věku přiměřeněji je možné začít s miniestrogenní substitucí, aby byl nastartován vývoj dělohy, ale nebyl současně urychlen uzávěr růstových štěrbin. Pro praxi z toho vyplývá apel na včasný záchyt dívek s TS především v primární pediatrické péči. Třetí skupinou jsou **děti s chronickou renální insuficiencí**, u nichž se kombinují metabolické změny jako důsledek onemocnění orgánu, poruchy hormonální ve smyslu určité rezistence na vlastní GH a změny vazebných bílkovin pro GH i IGF I. Dávkování je stejné jako u TS. Další indikační skupinou jsou **děti se syndromem Pradera–Williho**. Jde o geneticky podmíněné onemocnění s prevalencí 1:12 000–15 000 živě narozených, s celou škálou klinických symptomů. Tvorba GH je u nich snížena v důsledku hypotalamické dysfunkce, není vyloučena ani možná porucha receptorová, protože onemocnění provázejí také dysmorfické rysy a abnormity kostí. Dávkování je stej-

né jako u somatotropní nedostatečnosti. Nejnověji schválenou skupinou jsou děti s intrauterinní růstovou retardací, které se rodí vzhledem ke gestačnímu věku s nízkou porodní hmotností a/nebo délkou, označujeme je jako **děti SGA/IUGR**. Většina z nich po narození a odstranění příčiny energetického strádání handicap vyrovná, v 10–15 % však i po 3.–4. roce věku v růstu zaostávají a jsou indikovány k léčbě GH. Důvodem není neschopnost GH tvořit, jen mízivé procento těchto dětí má deficit, většinou se u nich jedná o subtilní formu GH insuficience, o částečnou insenzivitu k endogennímu GH nebo IGF I, nacházíme u nich abnormální 24hodinový sekreční profil a/nebo odlišné odpovědi na stimulační signály. Tyto děti před zahájením léčby netestujeme, dávkování GH je u nich nejvyšší, kolísá v rozmezí 0,7–1,4 IU/kg/týden (0,033–0,067 mg/kg/den) (5).

Během léčby u všech indikací monitorujeme kromě růstové rychlosti tělesnou hmotnost, biologické a sexuální vyžívání, tyroidální osu, sonodenzitometricky kostní hustotu, nejméně v ročních intervalech IGF-I, případně IGF BP3, glykovaný hemoglobin.

Absolutní kontraindikací léčby rhGH u dětí je aktivní nádorové onemocnění, při podezření na recidivu léčbu přerušujeme.

Zatímco všechny uvedené kategorie dětských pacientů ukončují léčbu ve fázi uzávěru růstových štěrbin, od roku 1999 pacienti z první skupiny absolvují po krátké (2–3měsíční) pauze retestování a potvrdí-li se nevyhovující poststimulační odpověď, která je posuzována přísněji, pokračují v nízkodávkované léčbě rhGH. Kromě těchto **dospělých s chyběním růstového hormonu z dětství** do současných indikací léčby patří **pacienti po zásahu v oblasti hypofýzy nebo s hypotalamo–hypofyzárním poškozením**, které vede k (pan)hypopituitarizmu.

Léčba rhGH přípravkem u dospělých má nižší dávkování, obvykle se zahajuje v rozmezí 0,45–0,9 IU/den, což odpovídá 0,15–0,3 mg/den, postupně se může zvyšovat na max. dávku 3 IU/den (1,0 mg/den), aplikace stejná, podkožní injekce 6–7 dní v týdnu. Pro dávkovací režim je rozhodující individuální tolerance. Z možných nežádoucích účinků je relativně nejčastější vznik otoků, syndrom karpálního tunelu, mírné artralgie, tyto příznaky po redukcí dávek mizí. Absolutními kontraindikacemi léčby rhGH u dospělých jsou maligní procesy kdekoliv v těle, benigní intrakraniální hypertenze a diabetická retinopatie. Současné indikace k léčbě shrnuje tabulka 2.

**Tab. 2.** Indikace pro léčbu růstovým hormonem v České republice

GH deficit u dětí (od roku 1998)
dívky s Turnerovým syndromem (1992)
růstové selhání u dětí s chronickou renální insuficiencí (1995)
dospělí s GH deficitem (1999)
děti se syndromem Pradera–Williho (2001)
děti SGA/IUGR s postnatálním růstovým selháním (2003)

Při rhGH léčbě dospělých sledujeme hladiny IGF-I a IGF BP3, tyroidálních hormonů, lipidogram, glykémii a glykovaný hemoglobin. Z klinických parametrů hmotnosti měříme

tělesné obvody, zátěžové EKG a ve dvouletých intervalech kontrolujeme denzitu kostí. Vhodné by bylo psychosociální testování pomocí standardizovaných osobních dotazníků.

### LÉČBA RŮSTOVÝM HORMONEM V ENDOKRINOLOGICKÉM ÚSTAVU

Dětskými pacienty jsou v drtivé většině případy se somatotropní insuficiencí nebo deficitem, menší počet je dívek s TS a dětí s SGA/IUGR. Pacienti se k nám dostávají na doporučení pediatriů, jako významný prvek v této spolupráci hodnotíme vzdělávací přednáškové a diskuzní akce, na kterých se v terénu podílíme.

Celkový počet (od)lěčených dětí a jejich indikace zobrazuje tabulka 3. V 90. letech minulého století bylo omezené spektrum léčebných přípravků vyráběných rekombinantní biotechnologií, postupně se jejich nabídka rozšířila. Kvali-

**Tab. 3.** Léčba růstovým hormonem v EU – soubor pacientů v letech 1993–2006

celkový počet dětí ( 4-18 let) n = 398
GHD parciální n = 287 GHD kompletní n = 48
panhypopituitarismus n=9
Turnerův syndrom dívky n=33
děti s renální insuficiencí n=4
děti SGA/IUGR n=14
jiné (syndrom Noonanové, syndrom Silverův-Russelův) n=3
dospělí GH deficit n=10

**Tab. 4.** Lékové přípravky rekombinantního růstového hormonu (rhGH) aktuálně dostupné v České republice

Norditropin Simplexx (NovoNordisk)
Genotropin (Pfizer)
Saizen (Serono)
Humatrope (Elli-Lilly)
Zomacton (Ferring Léčiva)
Nutropin (Ipsen)

ty jsou srovnatelné, liší se formou, obsahem účinné látky v ampuli a v dávkovací jednotce. Velmi se také zkvalitnila aplikační technologie, k dispozici jsou sofistikovaná pera s dávkovacím displejem, velmi tenké a krátké jehly, jeden z přípravků je podáván bezjehlovým způsobem. Výběr léčebného přípravku přizpůsobujeme tělesným parametřům a individuálním dovednostem dítěte či rodičů. Současně dostupné a používané léčebné přípravky shrnuje tabulka 4.

Podle biologické odpovědi upravujeme v tříměsíčních intervalech prvotní dávkování tak, aby růstová rychlost nebyla nadměrná a kontrolované parametry byly v rovnováze s normou pro daný věk a pohlaví.

V optimálních případech dosahují léčené děti predikované tělesné výšky, v méně úspěšných alespoň dolních mezí normálního výškového rozptylu naší populace. U dívek s TS je optimálním dosažení výšky odpovídající horním pásmům

růstového grafu pro toto onemocnění. Můžeme konstatovat, že léčebný efekt u dětí našeho souboru je velmi dobrý až optimální v 80 %, růstová rychlost se zvyšuje nejvíce v prvních letech léčby, finální výšku významně ovlivní délka léčebného podávání GH, v pubertě růstový vývin vyžaduje přítomnost sexuálních hormonů, které u hypogonadizmů substituujeme. Zvýšená modelace kostní tkáně vyžaduje dostatek kalcia a magnesia ve stravě, v zimních a jarních měsících provádíme suplementaci cholekalciferolem. Asi u poloviny pacientů diagnostikujeme snížení tyroxinémie, kterou korigujeme malými dávkami tyroxinu, ve stravě akcentujeme adekvátní přísun jodu. Nežádoucí účinky GH léčby jsme nezaznamenali v žádném případě, předčasně jsme léčbu ukončili u 4 dětí. U dvou z nich byl důvodem nesouhlas rodičů, kteří se spokojili s dosaženou výškou před uzávěrem růstových štěrbin, v jednoho kvůli diagnóze Peutzova-Jeghersova syndromu mnohočetné střevní polypózy a u posledního byla důvodem přerušení terapie recidiva mozkového tumoru.

Ke zdaru léčby jistě přispívá časté setkání s pacienty a jejich rodiči v ordinaci, možnost konzultace kdykoliv po telefonu, ale významnou měrou se na vzájemné spolupráci a důvěře podílí i neúřední setkávání v rámci letních táborů, víkendových vzdělávacích a relaxačních aktivit a společenských setkání pacientů, které my i naši pacienti velmi oceňujeme. Zejména společensky handicapovaní nebo s léčbou začínající si tak najdou nové kamarády, získají sebedůvěru a předají zkušenosti, naučí se samostatně aplikovat rhGH a získají důležité informace o svém onemocnění.

Závěrem lze říci, že léčba GH u dětí, je-li zahájena včas a je-li dodržena individuální dávkovací strategie, je bezpečná a přináší velmi dobré výsledky. Kromě zisku zvýšené růstové rychlosti a dosažení vyhovující finální výšky postavy deklarují naši pacienti v řadě případů také zlepšení tělesné i psychické výkonnosti, děti s SGA/IUGR zvýšení chuti k jídlu, děti náchylné k častým infekcím snížení nemocnosti, objektivně zjišťujeme nárůst kostní a svalové hmoty, což vše významně přispívá ke zkvalitnění života.

#### Zkratky

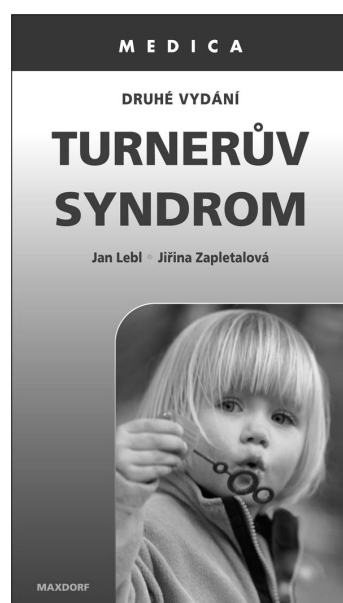
GH	– růstový hormon, somatotropin (growth hormone)
GHRH	– růstový hormon uvolňující hormon, somatoliberin (growth hormone releasing hormone)
GHRP	– růstový hormon uvolňující peptid (growth hormone releasing peptide)
GHS	– sekreci růstového hormonu způsobující látka (growth hormone secretagogue)
IGF-I	– inzulínu podobný růstový faktor (insuline like growth factor)
IGF BP3	– vazebná bílkovina 3 pro inzulínu podobný růstový faktor (insuline like growth factor binding protein 3)
PROP I	– předchůdce PIT I, transkripční faktor diferenciaci hypofýzy (prophet of PIT I)
POU I F1 (PIT I)	– transkripční faktor ukončující morfogenezi adenohipofýzy
rhGH	– rekombinantní lidský růstový hormon (recombinant human growth hormone)

SGA/IUGR – dítě s nízkou porodní hmotností a/nebo délkou vzhledem k gestačnímu věku/nitroděložní zpomalení růstu (small for gestational age/ intrauterine growth retardation)

TS – Turnerův syndrom

### LITERATURA

1. **Jenšovský, J., Lebl, J., Christiansen, J. S. et al.:** Růstový hormon. Praha, Galén, 2000, s. 23-51.
2. **Kalvachová, B., Stárka, L.:** Růstový hormon a jeho klinické perspektivy. In: Stárka L. et al.: Aktuální endokrinologie. Praha, Maxdorf, 1999, s. 199-205
3. **Lebl, J., Černá, J., Dvořáková, M. et al.:** Poruchy morfogeneze a diferenciacce hypofýzy. DMEV, 2006, 1 (Suppl.), s. 4-8.
4. **Lebl, J., Šnajderová, M.:** Současné indikace léčby růstovým hormonem v pediatrii. DMEV, 2004, 4, s. 218.
5. **Sizonenko, P. C., Clayton, P. E., Cohen, P. et al.:** Diagnosis and management of growth hormone deficiency in childhood and adolescence. Growth Hormone- IGF Research, 2001, 11, s. 137-165; www.idealibrary.com



## TURNERŮV SYNDROM, 2. VYDÁNÍ

*Jan Lebl, Jiřina Zapletalová*

Druhé aktualizované vydání knihy je věnováno otázkám vrozeného a poměrně častého onemocnění žen, při kterém se žena rodí pouze s jedním chromozomem X, což vede k omezení činnosti pohlavních žláz, včetně neplodnosti, poruchám růstu a dalším abnormalitám.

*Vydal Maxdorf v roce 2005, ISBN 80-7345-064-X, formát 110x190, brož., 72 str., cena 145 Kč.*

**Objednávku můžete poslat na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz**

## PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

## Vztah komplementu a autoimunitních onemocnění štítné žlázy

Potluková E., Límanová Z.  
III. interní klinika 1. LF UK a VFN, Praha

### SOUHRN

Komplementový systém je důležitou součástí vrozené imunity. Ačkoli u systémových autoimunitních chorob je jeho účinek spíše protektivní, při autoimunitních zánětech štítné žlázy aktivně napadá tyreocyty, které exprimují řadu složek komplementu a komplementových inhibitorů. Aktivace klasické cesty komplementu je ve tkáni štítné žlázy započata buď protilátkami proti antigenům štítné žlázy ve formě imunokomplexů, nebo vazbou složky komplementu C4 na tyreoidální peroxidázu, anebo přímou aktivací reaktivními kyslíkovými radikály. Tyreocyty jsou proti útoku komplementu rezistentní; při napadení však uvolňují prozánětlivé cytokiny a reaktivní kyslíkové radikály, vedoucí k progresi zánětu. Klinický význam komplementu u autoimunitních zánětů štítné žlázy byl dosud sledován pouze u poporodní tyreoiditidy. Přes jistý pokrok však zůstává role komplementového systému v etiopatogenezi autoimunitních procesů málo poznána.

**Klíčová slova:** komplement, autoimunitní tyreoiditidy, tyreoidální peroxidáza, cytokiny.

### SUMMARY

*Potluková E., Límanová Z.: The Role of Complement in Autoimmune Thyroid Disorders*

The complement system is a crucial part of the innate immune system. In systemic autoimmune disorders, its effects tend to be protective. On the contrary, in the autoimmune thyroid disorders (AIT) the complement actively attacks thyrocytes, which express a number of complement components as well as complement inhibitory molecules. According to the experimental studies different ways of complement activation might occur in the thyroid tissue. All ensue via the classical pathway that is started either by immune complexes containing complement activating autoantibodies against thyroid autoantigens, or by direct binding of C4 to the molecule of thyroid peroxidase (TPO); or by direct complement activation by reactive oxygen radicals. Thyrocytes are relatively resistant to the complement attack. However, sublethally injured thyrocytes release proinflammatory cytokines and reactive oxygen radicals and thus promote the inflammatory process in the thyroid. So far, the clinical significance of the complement in the thyroid has been studied only in postpartum thyroiditis. The exact role of complement in the pathogenesis of AIT remains to be elucidated.

**Key words:** complement autoimmune thyroiditis, thyroid peroxidase, cytokines.

Po.

Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 210–214.

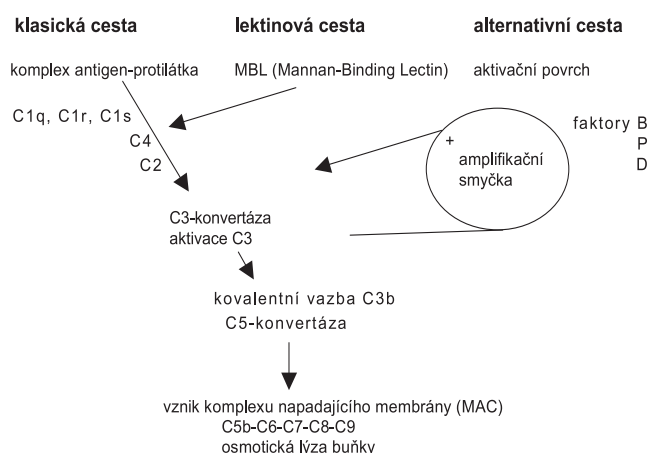
### KOMPLEMENT A AUTOIMUNITA

Úloha komplementového systému (komplementu) u systémových zánětlivých chorob je již do značné míry prozkoumána. U orgánově specifických autoimunitních chorob, jakými jsou autoimunitní tyreoidální onemocnění (AIT), je však poznání v této oblasti spíše v začátcích. Tyto choroby zahrnují Gravesovu–Basedowovu chorobu (GBT) a chronickou tyreoiditidu (lymfocytární tyreoiditidu v širším slova smyslu s variantou hypertrofickou a atrofickou a tyreoiditidu poporodní). Článek shrnuje stav současných názorů a vědomostí o komplementu a jeho některých složkách ve vztahu k nejčastějšímu endokrinnímu onemocnění – tyreoidální autoimunitě.

Komplement je součástí vrozeného imunitního systému. Tři

cesty aktivace komplementu jsou znázorněny na obrázku 1. Všechny vedou ke vzniku komplexu napadajícího membrány (MAC), jinak též terminálního komplementového komplexu (TCC) (1). Nežádoucí aktivita komplementu je tlumena řadou komplementových inhibitorů. Mezi fyziologické funkce komplementu patří vyvolání a udržení zánětu, osmotická lýza mikroorganismů a patologicky změněných buněk, opsonizace antigenních částic a čištění organismu od cirkulujících komplexů antigen–protilátka (imunokomplexů). Imunokomplexy fascinovaly již v 70. letech minulého století pracovníka Endokrinologického ústavu MUDr. V. Šmejkal, DrSc.

Komplement je považován za spoluhráče autoreaktivních lymfocytů a účastní se regulace prezentace antigenů T-lymfocytům. Při vzniku systémových autoimunit má komplement



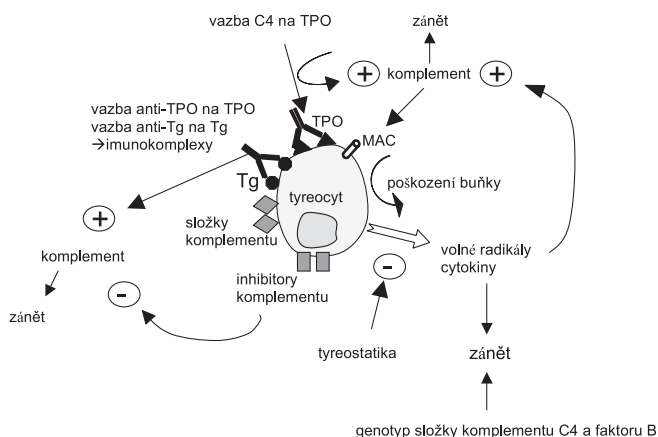
**Obr. 1.** Cesty aktivace komplementového systému

Komplement je kaskáda vzájemně se štěpících enzymů. Klasická cesta je aktivována imunokomplexy, lektinová cesta molekulou MBL (Mannan-Binding Lectin) a alternativní cesta aktivačním (nejčastěji bakteriálním) povrchem, na nějž se váže složka C3b.

Složky komplementu, které se aktivačních cest účastní, jsou znázorněny na obrázku. Klíčovou událostí je štěpení složky C3 a vznik složky C3b, jež umožní vznik C5 konvertázy. Ta aktivuje složku C5 a vyvolá vznik terminálního komplementového komplexu (TCC), čili komplexu napadajícího membrány (MAC).

MAC má tvar kanálku a zabudováním do buněčné membrány vyvolá osmotickou lýzu buňky.

ochranný účinek. V jejich etiopatogenezi hraje roli nedostatečné čištění organismu od apoptotických buněk, buněčného detritu a imunokomplexů a dále porucha negativní selekce autoreaktivních B-lymfocytů. Složka C1q se spolu s dalšími proteiny vrozené imunity váže na autoantigeny (např. dsDNA a nukleární proteiny) a aktivuje komplement. Oponizované komplexy putují ke stromálním buňkám kostní dřeně a zde se podílejí na negativní selekci autoreaktivních B-lymfocytů.



**Obr. 2.** Vliv komplementu na tyreocyty při autoimunitním zánětu

K aktivaci klasické cesty komplementu dochází a) vazbou protilátek proti tyreoidálním antigenům na povrchu tyreocytů; b) přímou vazbou složky C4 na molekuly TPO; c) přímou aktivací komplementu reaktivními kyslíkovými radikály. Tyreocyty se proti útoku komplementu brání expresí komplementových inhibitorů.

Přesto dojde k jejich poškození komplexem útočícím na membrány (MAC), což vede k uvolnění volných radikálů a cytokinů a prohloubení autoimunitního zánětu. Proti tomuto efektu působí tyreostatika. Vznik autoimunitního zánětu ve tkáni štítné žlázy je ovlivněn i genotypy složek C4 a faktoru B.

V případě deficiencie C1q tak autoreaktivní B-lymfocyty unikají této negativní selekci, přežívají a při setkání s autoantigenem se aktivují a produkují patologické autoprotilátky (2).

U některých orgánově specifických autoimunitních onemocnění, např. u Crohnovy nemoci nebo diabetes mellitus 1. typu, je komplement v rámci vrozené imunity důležitý pro odstranění patogenů vyvolávajících či zhoršujících autoimunitní proces (2). Zájem endokrinologů o komplement je tedy u dalšího endokrinního onemocnění – u autoimunitních chorob štítné žlázy – logický. Závěry studií publikovaných v posledních 15 letech se sice liší ohledně role komplementu při vzniku autoimunitních tyreoiditid, všechny v něm však narozdíl od ochranné funkce při vzniku SLE spatřují faktor potenciálně destruktivní (obr. 2).

## PREDISPOZIČNÍ FAKTORY AIT

Na vzniku AIT se stejně jako u ostatních autoimunitních procesů podílejí faktory genetické, endogenní a zevního prostředí. U predisponovaných osob dochází k poruše imunologické tolerance vlastní tkáně. Ke vzniku GBT predisponuje antigen HLA-DR3 hlavního histokompatibilního komplexu (MHC) II. třídy a polymorfizmy genu pro adhezivní molekulu CTLA-4 (3). Změny alotypů složek komplementu C4 a faktoru B predisponují ke vzniku poporodní tyreoiditidy (PPT) a GBT (4). Byly popsány i různé další geny, které by se mohly účastnit vzniku AIT; z nich však zatím žádný není hodnocen jako významný (5). K nejdůležitějším faktorům endogenním patří vlivy pohlavních hormonů. Z faktorů prostředí se na vzniku AIT podílí především nadměrný příjem jodu, popřípadě změna v jeho příjmu, stres a léčba imunomodulačními látkami interferonem alfa a monoklonální protilátkou proti CD 52, která svým vedlejším účinkem vyvolává GBT. Svou roli hraje i kouření (3, 6).

## AKTIVNÍ ROLE TYREOCYTŮ V PROGRESI AIT

Klíčovou roli v progresi autoimunitního procesu ve štítné žláze hrají samotné tyreocyty. Pod vlivem interferonu gamma (IFN- $\gamma$ ) produkovaného T-lymfocyty exprimují na svém povrchu molekuly MHC II. třídy a stávají se tak schopnými prezentovat autoantigeny (7). Tyreocyty tak indukují periferní toleranci naivních T-lymfocytů, například při tyreoiditidě vyvolané virem. Pokud je však autoimunitní proces započat a autoantigeny jsou prezentovány profesionálními antigen prezentujícími buňkami (APC), zhoršuje přídavná prezentace autoantigenů tyreocyty již probíhající zánět. V odpovědi na prozánětlivé cytokiny exprimují tyreocyty některé další molekuly (ICAM-1, LFA-3), které podporují cytotoxicitu lymfocytů. Další způsoby interakce mezi tyreocyty a lymfocyty zahrnují molekuly CD44 a CD40. Po stimulaci interleukinem 1 (IL-1) také tyreocyty produkují řadu interleukinů a chemokinů, které ovlivňují lymfocytární infiltrát v tkáni (3). Během autoimunitního procesu dochází k aktivaci komplementu, proti které se tyreocyty brání expresí komplementových inhibitorů. Přesto komplement tyreocyty poškodí natolik, že začnou uvolňovat kyslíkové radikály a prozánětlivé cytokiny, a tím dojde k prohloubení zánětu (8) (obr. 2).

## EXPRESSE KOMPLEMENTU TYREOCYTY

Pro pochopení role tyreocytů v iniciaci a rozvoji tyreoidální autoimunity je významné zjištění, že tyreocyty exprimují složky komplementu (9–13) i komplementové inhibitory (14–16). Již v roce 1972 Werner imunohistochemicky dokumentoval přítomnost granulárních depozit imunoglobulinů a složek komplementu v tyreoidálním konektivním stromatu a ve folikulárních bazálních membránách (10). Na jeho práci navázal například Kasajima, který rovněž imunohistochemicky prokázal složky klasické cesty komplementu C1q, C4, C3c, C3d a C5 v lymfatické tkáni patologicky změněných štítných žláz (11). Důležité jsou výsledky Blanchinové, která pomocí RT PCR zjistila, že zdravé tyreocyty exprimují složky C2 až C6 a C9. Tyreocyty nemocných s GBT zvýšeně exprimovaly složky stejné jako tyreocyty zdravé, zatímco tyreocyty nemocných s chronickou lymfocytární tyreoiditidou (CLT) vykazovaly zvýšenou expresi všech hledaných složek, tedy včetně C7 a C8 (12). Jiné studie upozornily na přítomnost terminálního komplementového komplexu (TCC) okolo tyreoidálních folikulů ve tkáni postižené GBT i CLT, avšak ne u zdravých tyreocytů (13, 17). Zajímavostí je nález depozit imunoglobulinů a složky komplementu C3c v biotických vzorcích pretibiálního myxedému a retroorbitální tkáně postižené endokrinní oftalmopatií u nemocných s GBT. Depozita se solubilizovala po inkubaci s IgG. Autoři proto spekulovali o možném terapeutickém použití intravenózního imunoglobulinu v léčbě extra-tyreoidálních manifestací GBT (18).

Tak jako všechny jaderné buňky jsou i tyreocyty relativně rezistentní vůči napadení komplementem. Je to dáno tím, že na svém povrchu exprimují komplementové inhibitory. Mezi dosud nalezené patří CD 46 (MCP = Membrane Cofactor Protein), CD 55 (DAF = Decay Accelerating Factor) a CD 59 (MACIF = Membrane Attack Complex Inhibiting Factor) (14–16). Nakai zjistil, že tyreocyty nemocných s GBT zvyšují expresi CD 59 a CD 55 pod vlivem tyreoidálního stimulačního hormonu (TSH) a protilátek stimulujících receptor pro TSH (TRAK) (14). Tandon prokázal přítomnost všech uvedených inhibitorů na tyreocytech získaných od nemocných s GBT i CLT. Z nich se jako funkčně nejdůležitější v ochraně proti komplementu jevil CD 59. Po zablokování CD59 monoklonálními protilátkami došlo k výraznému zesílení cytolytického účinku komplementu (15, 16). Kromě komplementových inhibitorů vázaných na membránu produkují tyreocyty i inhibitory solubilní: S-protein (vitronectin) a clusterin (SP 40,40) (16).

## AKTIVACE KOMPLEMENTU VE ŠTÍTNÉ ŽLÁZE

Aktivaci komplementu ve tkáni štítné žlázy vyvolávají imunokomplexy protilátek proti tyreoidálním antigenům, přímá vazba C4 na TPO a zřejmě i reaktivní kyslíkové radikály. Autoprotilátky navázané na tyreoidální antigeny aktivují klasickou cestu komplementu a navozují buněčnou cytotoxicitu závislou na protilátkách (ADCC). Studie Inoueho prokázala, že *in situ* perfuze králíčích štítných žláz sérem obsahujícím protilátky proti tyreoidálním antigenům vyvolala experimentální tyreoiditidu (17) a že k jejímu vzniku je třeba přítomnosti složky komplementu C6. Zajímavá jsou zjištění Nielse-

na, že protilátky proti tyreoglobulinu (Tg) tvoří s Tg imunokomplexy, které nejen aktivují komplement, ale také se váží na B-lymfocyty a vyvolávají proliferaci jak B-lymfocytů, tak i CD4+ T-lymfocytů. Tato proliferace je závislá na komplementu (19, 20). Metcalfeovi se však nepodařilo prokázat, že by podání solubilního komplementového inhibitoru potkáním s experimentální tyreoiditidou průběh nemoci ovlivnilo, ačkoli infuze lidských protilátek proti TPO (TPOAb) onemocnění zhoršila (21). Klinické studie prokázaly vliv komplement-fixujících TPOAb na výskyt a průběh poporodní tyreoiditidy (viz níže). Je však třeba mít na zřeteli, že: a) molekuly TPO jsou cirkulujícím TPOAb špatně přístupné svou lokalizací na apikálním okraji folikulárních tyreocytů; b) děti narozené matkám pozitivním na TPOAb jsou eutyreózní; c) mnoho starších eutyreózních žen je TPOAb pozitivních (22).

Podle Blanchinové je komplement aktivován i přímou vazbou C4 na extracelulární část molekuly TPO (12). Ta je kódována třemi genovými moduly. N-terminální část je homologní s myeloperoxidázou, druhý modul je homologní s částí CCP (Complement Control Protein) komplementového receptoru CR1. Třetí modul TPO je homologní s modulem pro epidermální růstový faktor (EGF) lidského fibrillinu 1 (23). Oba posledně zmíněné genové moduly jsou také přítomné v podjednotce C1s komplementové složky C1, která startuje klasickou cestu komplementu (24). Rovněž jsou obsaženy v serinových proteázách asociovaných s MBL (MASP), jejichž funkcí je aktivace složky C4 v rámci lektinové cesty aktivace komplementu (25). Blanchinová nejen prokázala, že se C4 váže přímo na část TPO homologní s CCP, ale že tato vazba také vede ke specifické aktivaci klasické cesty komplementu, a to bez přítomnosti protilátek (12). Autorka upozorňuje na to, že k obdobné aktivaci komplementu dochází i při přímé vazbě C1q nebo C3 na peptidy  $\beta$ -amyloidu u Alzheimerovy nemoci. Existují i další paralely mezi AIT a neurodegenerativními onemocněními: U obou je základem zánětu lokální produkce kyslíkových radikálů, cytokinů a dalších faktorů včetně složek komplementu. Tvorba kyslíkových radikálů je doprovodným jevem syntézy tyreoidálních hormonů i za fyziologických podmínek. Tyreocyty poškozené komplementem pak jejich tvorbu ještě zvyšují (26). Kyslíkové radikály vyvolávají jak agregaci  $\beta$ -amyloidu u Alzheimerovy choroby, tak podle Blanchinové i agregaci molekul TPO tvorbou dityrosinových můstků. Blanchinová pozorovala, že tento fenomén vede k navýšení afinity složky C4 k TPO. Kromě toho také autorka dospěla k závěru, že kyslíkové radikály přímo ve tkáni štítné žlázy aktivují složku C4. Jednalo by se o podobný mechanismus, jakým reaktivní kyslíkové radikály oxidují metioninové rezidua složky C5, a tím ji aktivují, aniž by bylo třeba účasti složek C1r a C1s navázaných na imunokomplex C1q-TPO (27).

Tyreocyty tedy útok komplementu přežívají, ale uvolněním reaktivních kyslíkových radikálů a prozánětlivých cytokinů (8, 26) přispívají k zánětu zprostředkovanému buňkami adaptivní imunity. Kromě toho se snížila schopnost tyreocytů odpovědět na stimulaci TSH. Tyreocyty se napadení komplementu brání tím, že pod vlivem IFN- $\gamma$  a IL-1 zvyšují expresi komplementových inhibitorů (viz výše). Podle Weetmana spočívá imunomodulační účinek tyreostatik methimazolu a propylthiouracilu právě v potlačení uvolňování kyslíkových radikálů a cytokinů tyreocyty napadenými komplementem (8).



## KLINICKÉ STUDIE

Vztahem mezi aktivací komplementu a autoimunitním procesem ve štítné žláze se zabývají některé klinické studie. V roce 1993 popsal Chiovato v sérech nemocných s AIT IgG protilátky, jež *in vitro* vedly k lýze erytrocytů zprostředkované komplementem (28). O rok později pak Parkes zavedl termín „bioaktivní TPOAb“ pro frakci protilátek proti TPO, které aktivují složku komplementu C3 (29). Bioaktivní TPOAb jsou výsledkem součinu celkové koncentrace TPOAb v séru a tzv. C3 indexu, který udává míru aktivace složky C3. Parkes zjistil, že u matek pozitivních na TPOAb vzrůstá koncentrace bioaktivních TPOAb během šesti měsíců po porodu a že jejich koncentrace pozitivně koreluje nejen s výskytem PPT, ale i s její klinickou závažností (29, 30). Parkes později také prokázal, že vysoká koncentrace bioaktivních TPOAb u matek pozitivních na TPOAb až na výjimky pozitivně koreluje se stupněm sonografické hypoechogenity s poruchou funkce štítné žlázy (31). Klinický význam bioaktivních protilátek proti TPO však zpochybnil Okosieme, když zjistil, že jejich přítomnost v sérech žen s PPT není provázána TCC. K systémové aktivaci komplementu tedy v této situaci zřejmě nedochází (32). Naproti tomu Weetman zvýšené sérové koncentrace TCC prokázal u GBT i CLT. Navíc po úspěšné léčbě GBT došlo k poklesu jejich koncentrace (13).

Vzhledem k tomu, že se komplement rozhodujícím způsobem účastní úklidu cirkulujících imunokomplexů (CIK) z organismu, stojí za zmínku i starší práce Broheeho a Gouny, kteří prokázali zvýšený výskyt CIK u nemocných s tyreopatiemi (33), (34). S metabolismem imunokomplexů by mohl souviset i nález autoprotilátek proti C1q složce komplementu (anti-C1q) u AIT, jež učinila naše výzkumná skupina. Z našich pozorování vyplývá, že anti-C1q jsou významně častěji přítomné v sérech nemocných s GBT a CLT než u skupiny osob s polynodózní strumou a osob kontrolních (35). Z analýzy vyplývá, že koncentrace anti-C1q korelují negativně s TSH a pozitivně s tyreoidálními hormony u osob s GBT, zatímco u osob s CLT je korelace s TSH pozitivní. Stanovení anti-C1q je v současnosti velmi aktuální u SLE, u něhož s vysokou specificitou a senzitivitou pomáhá v diagnostice SLE-nefritidy. Ukazuje se totiž, že přítomnost anti-C1q protilátek velmi dobře koreluje se vznikem či relapsem lupusové nefritidy a jejich nepřítomnost tuto diagnózu v podstatě vylučuje (36).

Metabolismus složek komplementu je ovlivňován hormony štítné žlázy. Dalkjaer Riisová zjistila, že jak hypertyreóza při GBT, tak i experimentálně navozený hypertyreoidní stav organismu zvyšují sérové koncentrace lektinu vázajícího mannan (MBL), klíčové složky komplementu v lektinové aktivační cestě (obr. 1) a hypotyreóza má efekt opačný (37). Sorensen toto zjištění potvrdil v experimentální studii, kdy tyreoidální hormony T3 a T4 stimulovaly produkci MBL hepatocyty (38). Yu v letošní studii našel negativní korelaci mezi hypertyreózou a koncentrací složky komplementu C3 (39). Složka C3 je prekurzorem anaboličké ACP (Acylation Stimulating Protein) a nabízí se tak vztah mezi komplementem a metabolickým stavem organismu.

## ZÁVĚR

Komplementový systém je spolu s adaptivní imunitou významným faktorem v etiopatogenezi autoimunitních onemocnění štítné žlázy, při nichž podporuje autoimunitní procesy. Aktivaci komplementu vyvolávají imunokomplexy autoprotilátek proti antigenům štítné žlázy, přímá vazba složky C4 na molekulu TPO a štěpení složek C4 a C5 reaktivními kyslíkovými radikály, které tvoří samotné tyreocyty. Aktivace komplementu vede k poškození tyreocytů, stimulaci buněk imunitního systému a prohloubení autoimunitního procesu. Imunomodulační efekt tyreostatik, který není dosud jednoznačně vysvětlen, patrně spočívá v potlačení uvolňování zánětlivých mediátorů z tyreocytů napadených komplementem. Tyreoidální hormony samy o sobě ovlivňují metabolismus jednotlivých složek komplementu.

### Zkratky

ACP	– acylation stimulating protein
ADCC	– antibody-dependent cellular cytotoxicity
AIT	– autoimunitní tyreoidální onemocnění
APC	– antigen prezentující buňkami
CCP	– complement control protein
CLT	– chronická lymfocytární tyreoiditida
DAF	– decay accelerating factor
EGF	– epidermální růstový faktor
GBT	– Gravesova–Basedowova choroba
ICAM-1	– intercellular adhesion molecule 1
LFA-3	– leukocyte function-associated antigen 3
IFN- $\gamma$	– interferonu gama
IgG	– imunoglobulin G
MAC	– komplex napadající membrány
MACIF	– Membrane Attack Complex Inhibiting Factor
MASP	– mannose-binding lectin-associated serine protease
MBL	– lektin vázající mannan (mannan-binding lectin)
MCP	– membrane cofactor protein
PPT	– poporodní tyreoiditida
RT PCR	– reverse transcriptase polymerase chain reaction
TCC	– terminální komplementový komplex
Tg	– tyreoglobulin
TPO	– tyreoidální peroxidáza
TPOAb	– protilátky proti tyreoidální peroxidáze
TRAK	– protilátky stimulující receptor pro TSH
TSH	– tyreoidální stimulační hormon

## LITERATURA

1. **Abbas, A., Lichtman, A., Pober, J. S.:** Effector mechanisms of immune responses. In: Cellular and molecular immunology – Fourth Edition. Philadelphia, W. B. Saunders Company, 2000, s. 316-331.
2. **Carroll, M.:** Innate immunity in the etiopathology of autoimmunity. *Nature Immunology*, 2001, 2, s. 1089-1090.
3. **Weetman, A.:** Autoimmune thyroid disease: propagation and progression. *Eur. J. Endocrinol.*, 2003, 148, s. 1-9.
4. **Ratanachaiavong, S., Demaine, A. G., Campbell, R. D. et al.:** Heat shock protein 70 (HSP 70) and complement C4 genotypes in patients with hyperthyroid Graves'disease. *Clinical and Experimental Immunology*, 1991, 84, s. 48-52.
5. **Collins, J., Gough, S.:** Autoimmunity in thyroid disease. *Eur. J. Nucl. Med.*, 2002, 29, s. 417-424.

6. **Jiskra, J.:** Význam autoimunity u onemocnění štítné žlázy. In: Límanová, Z.: Trendy soudobé endokrinologie. sv. 2, Štítná žláza. Praha, Galén, 2006, s. 79-108.
7. **Lombardi, G., Arnold, K., Uren, J. et al.:** Antigen presentation by IFN-gamma treated thyroid follicular cells inhibits IL-2 and supports IL-4 production by B7-dependent human T cells. *Eur. J. Immunol.*, 1997, 27, s. 62-71.
8. **Weetman, A., Tandon, N., Morgan, B. P.:** Antithyroid drugs and release of inflammatory mediators by complement-attacked thyroid cells. *Lancet*, 1992, 340, s. 633-636.
9. **Kalderon, A., Bogaars, H. A.:** Immune complex deposits in Graves' disease and Hashimoto thyroiditis. *Am. J. Med.*, 1977, 63, s. 729.
10. **Werner, S., Wegelius, O., Fierer, J. A., Hsu, K. C.:** Immunoglobulins (E, M, G) and complement in thyroid of Graves's disease. *N. Engl. J. Med.*, 1972, 287, s. 421.
11. **Kasajima, T., Yamakawa, M., Imai, Y.:** Immunohistochemical study of intrathyroidal lymph nodes. *Clinical and Immunological Immunopathology*, 1987, 43, s. 117-128.
12. **Blanchin, S., Estienne, V., Durand-Gorde, J. et al.:** Complement activation by direct C4 binding to thyroperoxidase in Hashimoto's thyroiditis. *Endocrinology*, 2003, 144, s. 5422-5429.
13. **Weetman, A., Cohen, S. B., Oleksy, D. A., Morgan, B. P.:** Terminal complement complexes and C1/C1 inhibitor complexes in autoimmune thyroid disease. *Clin. Exp. Immunol.*, 1989, 77, s. 25.
14. **Nakai, H., Hirakawa, S., Hayakawa, N. et al.:** Enhanced expression of complement regulatory proteins on thyroid epithelial cells of Graves' Disease. *Acta Medica Okayama*, 1992, 46, s. 323-330.
15. **Tandon, N., Morgan, B. P., Weetman, A. P.:** Expression and function of membrane attack complex inhibitory proteins on thyroid follicular cells. *Immunology*, 1992, 75, s. 372-377.
16. **Tandon, N., Yan, S. L., Morgan, B. P., Weetman, A. P.:** Expression and function of multiple regulators of complement activation in autoimmune thyroid disease. *Immunology*, 1994, 81, s. 643-647.
17. **Inoue, K., Neisen, N., Milgrom, F., Albini, B.:** Transfer of experimental autoimmune thyroiditis by in situ perfusion of thyroids with immune sera. *Clin. Immun. Immunopathology*, 1993, 66, s. 11.
18. **Antonelli, A., Palla, R., Casarosa, L. et al.:** IgG, IgA and C3 deposits in the extra-thyroidal manifestations of autoimmune Graves' disease: their *in vitro* solubilization by intravenous immunoglobulin. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 1996, 14 (Suppl. 15), s. 31-35.
19. **Nielsen, C. H., Moeller, A. N., Hegedus, L. et al.:** Self-reactive CD4+ T cells and B cells in the blood in helath and autoimmune disease: increased frequency of thyroglobulin-reactive cells in Graves' disease. *J. Clin. Immunol.*, 2006, 26, s. 126-136.
20. **Nielsen, C. H., Hegedus, L., Leslie, R. G.:** Autoantibodies in autoimmune thyroid disease promote immune complex formation with self antigens and increase B cell and CD4+ T cell proliferation in response to self antigens. *Eur. J. Immunol.*, 2004, 34, s. 263-272.
21. **Metcalfe, R., McIntosh, R. S., Morgan, B. P. et al.:** The effect of soluble complement receptor 1 (sCR1) and human thyroid antibodies on the course of experimental autoimmune thyroiditis in rats. *Autoimmunity*, 1996, 23, s. 1-8.
22. **Muller, A., Drexhage, H. A., Berghout, A.:** Postpartum thyroiditis and autoimmune thyroiditis in women of childbearing age: recent insights and consequences for antenatal and postnatal care. *Endocrine Reviews*, 2001, 22, s. 605-630.
23. **Estienne, V., Blanchet, C., Nicoli-Sire, P. et al.:** Molecular model, calcium sensitivity, and disease specificity of a conformational thyroperoxidase B-cell epitope. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274, s. 35313-25317
24. **Thielens, N., Bersch, B., Hernandez, J. F., Arlaud, G. J.:** Structure and function of the interaction domains of C1r and C1s: keystones of the architecture of the C1 complex. *Immunopharmacology*, 1999, 42, s. 3-13.
25. **Matsushita, M., Fujita, T.:** Activation of the classical complement pathway by mannose-binding protein in association with a novel C1s-like serine protease. *J. Exp. Med.*, 1992, 176, s. 1497-1502.
26. **Weetman, A., Freeman, M., Morgan, B. P.:** Thyroid follicular cell function after non-lethal complement membrane attack. *Clin. Exp. Immunol.*, 1990, 82, s. 69.
27. **Vogt, W., Hesse, H.:** Activation of the fifth component of human complement by oxygen-derived free radicals, and by methionine oxidizing agents: a comparison. *Immunobiology*, 1992, 184, s. 384-391.
28. **Chiovato, L., Bassi, P., Santini, F. et al.:** Antibodies producing complement-mediated thyroid cytotoxicity in patients with atrophic or goitrous autoimmune thyroiditis. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, 1993, 77, s. 1700-1705.
29. **Parkes, A., Othman, S., Hall, R. et al.:** The role of complement in the pathogenesis of postpartum thyroiditis. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, 1994, 79, s. 395-400.
30. **Parkes, A., Othman, S., Hall, R. et al.:** Role of complement in the pathogenesis of postpartum thyroiditis: relationship between complement activation and disease presentation and progression. *Eur. J. Endocrinol.*, 1995, 133, s. 210-215.
31. **Parkes, A., Adams, H., Othman, S. et al.:** The role of complement in the pathogenesis of postpartum thyroiditis: ultrasound echogenicity and the degree of complement-induced thyroid damage. *Thyroid*, 1996, 6, s. 177-182
32. **Okosieme, O., Parkes, A. B., McCullough, B. et al.:** Complement activation in postpartum thyroiditis. *QJM*, 2002, 95, s. 173-179.
33. **Brohee, D., Delespesse, G., Debisschop, M. J., Bonnyns, M.:** Circulating immune complexes in various thyroid diseases. *Clin. Exp. Immunol.*, 1979, 36, s. 379-383.
34. **Gauna, A., Segura, G., Sartorio, G. et al.:** Immunological aspects of Graves' disease patients in different clinical stages. *J. Endocrinol. Investigation*, 1989, 12, s. 671-677.
35. **Potluková, E., Šandová, P., Jiskra, J. et al.:** The presence of anti-C1q antibodies in selected autoimmune diseases. In: *Sborník ze XXV. kongresu Evropské akademie alergologie a klinické imunologie. Vídeň, Rakousko, 2006*, s. 251.
36. **Trendelenburg, M., Lopez-Trascasa, M., Potluková, E. et al.:** High prevalence of anti-C1q antibodies in biopsy-proven active lupus nephritis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 2006, 21, s. 3115-3121.
37. **Dalkjaer Riis, A., Hansen, T. K., Thiel, S. et al.:** Thyroid hormone increases mannan-binding lectin levels. *Eur. J. Endocrinol.*, 2005, 153, s. 643-649.
38. **Sorensen, C., Hansen, T. K., Steffensen, R. et al.:** Hormonal regulation of mannan-binding lectin synthesis in hepatocytes. *Clin. Exp. Immunol.*, 2006, 145, s. 173-182.
39. **Yu, H., Yang, Y., Zhang, M. et al.:** Thyroid status influence on adiponectin, acylation stimulating protein (ASP) and complement C3 in hyperthyroid and hypothyroid subjects. *Nutrition and Metabolism*, 2006, s. 13

Práce byla podpořena grantem MZ ČR IGA 8352-3.

## PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

# Kvalita života pacientů s poruchou sexuálního vývoje a s Y chromozómem v karyotypu

Lisá L.

Endokrinologický ústav, Praha

## SOUHRN

Je uveden nový názor na diferenciální diagnostiku pacientů s karyotypem s přítomností Y chromozómu. Současně je hodnocena kvalita života pacientů s čistou a smíšenou gonadální dysgenézí.

**Klíčová slova:** poruchy pohlavního vývoje, čistá gonadální dysgeneze, smíšená gonadální dysgeneze.

## SUMMARY

*Lisá L.: Quality of Life in the Patients with Disorders of Sexual Development and with Y Chromosome in Karyotype*

New nomenclature of disorders of sexual development is provided. Contemporary the management and the quality of life in the patients with pure gonadal dysgenesis and mixed gonadal dysgenesis is assessed.

**Key words:** disorders of sexual development, pure gonadal dysgenesis, mixed gonadal dysgenesis. *Li.*

*Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 215–217.*

V letošním roce byl publikován konsenzus Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society (LWPES) a European Society for Paediatric Endocrinology (ESPE) o nové terminologii vrozených poruch pohlavního vývoje. Je pro ně doporučeno jméno poruchy sexuálního vývoje (DSD – disorders of sex development) (1). Nedoporučuje se Blizzardem užívaný název „intersex“ (2).

### Určení pohlaví

Určení pohlaví je u novorozenců mnohdy obtížné. Můžeme se setkat buď s virilizací zevního genitálu u novorozenců s ženským karyotypem, nebo naopak s neúplnou či chybějící virilizací u pacientů s mužským karyotypem (46 XY nebo mozaikou 45X/46XY). Poruchy pohlavní determinace a pohlavního vývoje nepatří k častým vadám. Hughes (1) uvádí výskyt anomálií pohlavního ústrojí u 1:4500 porodů. Včasné a přesné určení matrikální identity novorozence je však složité, vyžaduje spolupráci mnoha specialistů a je velmi zodpovědné, neboť určení matrikálního pohlaví ovlivňuje celý další vývoj postiženého jedince a kvalitu jeho života.

V práci uvádíme zkušenosti s diagnózou a léčbou skupiny pacientů buď s karyotypem 46 XY s čistou gonadální dysgenézí (PGD – pure gonadal dysgenesis), nebo pacientů s karyotypem 45X/46 XY se smíšenou gonadální dysgenézí (MGD – mixed gonadal dysgenesis). Mohou se vyskytnout i pacienti s chimérickým karyotypem 46XX/46XY a pra-

vým hermafroditizmem. S nesouladem mužského karyotypu (46XY) a ženského fenotypu pacienta se setkáváme rovněž u necitlivosti receptorů pro androgeny. Při obojetném zevním genitálu musíme myslet diferenciálně diagnosticky také na sníženou aktivitu enzymu 5- $\alpha$  reduktázy, který v periferních tkáních metabolizuje testosteron na aktivní dihydrotestosteron. Dále je třeba uvažovat i o poruše aktivity aromatázy, která v periferní tkáni metabolizuje androgeny na estrogény (3, 4).

Pro diferenciální diagnostiku je v první řadě důležitý vzhled novorozence, především utváření jeho zevního pohlaví.

U čisté gonadální dysgeneze nebo u kompletní necitlivosti androgenních receptorů se vyvíjí zevní genitál ženským způsobem. U PGD – Swyerova syndromu je to způsobeno dysgenetickými gonádami, které byly původně determinovány při karyotypu 46 XY jako testes, ale další vývoj testikulární tkáně je při nefunkčním Y chromozómu poškozen. U pacienta je nižší produkce testosteronu i antimüllerského hormonu. Zevní i vnitřní genitál je proto ženský.

U pacientů s kompletní androgenní necitlivostí (CAIS) má vývoj ženským směrem jinou příčinu. Receptory ve fetálních tkáních v době organogeneze neodpovídají na testosteron secernovaný diferencovanou testikulární tkání. Pokračuje vývoj testes, která jsou umístěna v dutině břišní. Chybí děloha. Určení matrikálního pohlaví v obou případech je jednoduché a novorozenci jsou zpravidla vedeni jako dívky. Správná diagnóza je provedena většinou až v období puber-

tálním při primární amenoree a chybění ženských sekundárních pohlavních znaků. Výjimečně bývá diagnostikována androgenní insenzitivita dříve, a to při operační úpravě inguinální hernie, kdy chirurg v kýlním vaku nachází gonádu připomínající testis.

Diagnóza MGD, neúplné androgenní insenzitivity (PAIS), pravého hermafroditizmu, deficitu enzymu 5- $\alpha$  reduktázy či deficitu nebo nadbytku aromatázy je určena krátce po narození, neboť novorozenci mají obojetný genitál. Tato malformace má několik stupňů podle klasické Praderovy klasifikace (prostá hypertrofické klitoridy přes falus nebo mikropenis, fúze labií či rozštěpené skrotum a sinus urogenitalis).

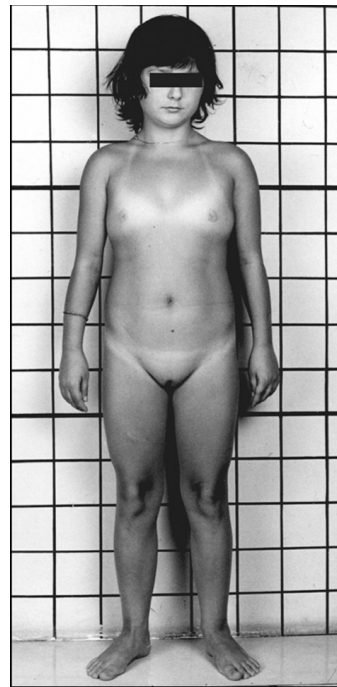
S obojetným genitálem se můžeme setkat i při mutacích genů na autozómeh. Uvádíme některé z nich: mutace WT1 (11p13) se syndromy WAGR (Wilmsův tumor, aniridie, poruchy genitálu, mentální retardace), Frasierův a Denysův-Drashův syndrom s poruchou ledvin, mutace SOX9 (17q24–25) s klinickými projevy karpelické dysplazie, mutace DAX1 (Xp21.3) s hypoplazií nadledvin a další (3, 4).

Další skupinou jsou poruchy způsobené mutací genů, které se podílejí na hormonální syntéze v gonádách nebo nadledvinách. Uvádíme opět jen příklady: mutace STAR (8p11.2) s kongenitální lipoidní adrenální hyperplazií, známé mutace CYP 21, CYP 11 a další v kůře nadledvin spojené s dalšími formami vrozené adrenální hyperplazie (3).

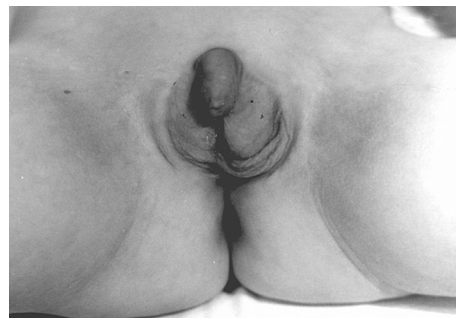
#### ZKUŠENOSTI S DIAGNÓZOU A SLEDOVÁNÍM PACIENTŮ S PGD A MGD

Sledujeme tři pacientky s PGD ve věku 4, 22 a 29 let. U všech bylo ihned po narození určeno matrikální pohlaví ženské. Dvě starší pacientky byly správně diagnostikovány a geneticky vyšetřeny až ve věku 14 a 15 let. V té době měly jen malé pubické ochlupení, nedocházelo k vývoji mam, chyběl nástup menarche (obr. 1). Nejmladší pacientka byla diagnostikována již v době intrauterinního života, kdy pro věk matky bylo provedeno vyšetření plodové vody. Karyotyp u všech tří pacientek byl 46XY. U jedné pacientky byla prokázána mutace SRY genu (Sultan, Montpellier). Sonografické vyšetření prokázalo u všech tří dívek přítomnost dělohy a chybění gonád, které byly dysgenetické a tvořeny jen vazivovými lištami. U prvních dvou pacientek byla provedena po dohodě s rodiči gonadektomie jako preventivní opatření rizika maligního zvratu lištovitě a hrubě dysgenetické gonády. Nejmladší pacientka se na operační výkon připravuje. Kvalita života u obou dospělých žen je velmi dobrá, obě jsou léčeny substitučně ženskými pohlavními hormony gynekology. Nejstarší je provdána a uvažuje o fertilizaci. Sociální uplatnění je dobré, jedna pacientka vystudovala střední ekonomickou školu, druhá zdravotní školu. Rovněž nejmladší pacientka se vyvíjí somaticky i psychicky přiměřeně.

Složitější je diferenciální diagnostika MGD. Postižení novorozenci nebo kojenci přicházejí k vyšetření záhy pro obojetné zevní pohlavní ústrojí. Bylo sledováno sedm dětí. Jejich karyotyp byl 45X/46XY, většinou v poměru 40–50/60–50. U tří pacientek byla prokázána absence SRY genu (Sultan, Montpellier). Malformace zevního genitálu byla označena 3. a 4. stupněm Praderovy klasifikace (obr. 2). U pěti dětí bylo v dutině břišní při gonadektomii nalezeno dysgenetické testis a lišta determinovaná jako ovarium.



Obr. 1. Dívka ve věku 15 let s čistou gonadální dysgenézí



Obr. 2. Dívka se smíšenou gonadální dysgenézí a obojetným genitálem ve věku 14 měsíců

Všechny tyto děti mají dělohu a jsou vedeny jako pohlaví ženské. U dvou dětí byly obě gonády uloženy v rozštěpeném skrotu, a proto byly, vzhledem k snadné kontrole, ponechány *in situ*. Tyto dvě děti mají pohlaví mužské. U pěti dětí, vedených jako dívky, byly provedeny plastické úpravy zevního genitálu. Nyní sledujeme pět pacientů. Dvě děti ze skupiny se odstěhovaly do zahraničí. Somatický a psychický vývoj dívek i dvou chlapců probíhá přiměřeně. Nejstarší 24letá pacientka je na substituční léčbě ženskými pohlavními hormony, pracuje jako zdravotní sestra. Další čtyři děti jsou v prepubertálním věku.

#### ZÁVĚR

Na správné diagnóze a vhodném matrikálním zařazení, které zaručuje přiměřený vývoj dítěte a dobrou kvalitu života, se podílí mnoho specialistů – genetici, gynekologové a urologové, endokrinologové, speciální hormonální laboratoře, pediatři, psychologové, antropologové (5–7). Podrobné vyšetření a matrikální určení dítěte s obojetným zevním

pohlavím je třeba provést co nejdříve po narození. Do konečného rozhodnutí o matrikální identitě dítěte by rodiče měli mluvit jen o svém „dítěti“. U pacientů, kteří jsou vedeni jako dívky, rovněž doporučujeme včasnou plastiku zevního genitálu, alespoň do 2 let života. Dobré zkušenosti máme při dalším sledování pacienta s tím, že takto postiženou osobu vede po celý život jeden lékař – endokrinolog, k němuž pacient a jeho rodiče mají důvěru a mohou s ním řešit další léčbu a všechny, převážně sociální problémy, které se při vývoji dítěte a i v životě již dospělého pacienta mohou vyskytnout (8). Je patrné, že při správném matrikálním zařazení pacienta a citlivém vedení mohou mít i takto geneticky závažně postižení plněhodnotný sociální a i rodinný život.

#### Zkratky

CAIS	– kompletní androgenní necitlivost
DSD	– poruchy sexuálního vývoje (disorders of sex development)
ESPE	– European Society for Paediatric Endocrinology
LWPES1	– Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society
MGD	– smíšená gonadální dysgeneze (mixed gonadal dysgenesis)
PAIS	– neúplná androgenní insenzitivita
PGD	– čistá gonadální dysgeneze (pure gonadal dysgenesis)

WAGR – Wilmsův tumor, aniridie, poruchy genitálu, mentální retardace

#### LITERATURA

1. Hughes, I. A., Houk, C., Ahmed, S. F., Lee P. A., LWPES1/ESPE Consensus Group: Consensus statement on management of intersex disorders. Arch. Dis. Child., 2006, 91, s. 554-562.
2. Blizzard, R. M.: Intersex Issue: A Series of Continuing Conundrum. Pediatr., 2002, 108, s. 616-621.
3. Lisá, L., Stárka, L., Hampl, R. et al.: Poruchy sexuální diferenciace. Praha, Maxdorf Jesenius, 2001.
4. Lisá, L., Seemanová, E., Zuntová, A.: Poruchy funkce gonád. Praha, Triton, 2004.
5. Brown, J., Warne, G.: Practical management of the intersex infant. J. Pediatr. Endocrinol. Metab., 2005, 18, s. 3-23.
6. Dreger, A. D., Chase, C., Sousa, A. et al.: Changing the nomenclature/taxonomy for intersex: A scientific and clinical rationale. J. Pediatr. Endocrinol. Metab., 2005, 18, s. 729-733.
7. Hampl, R., Stárka, L.: Steroidní laboratorní diagnostika v pediatrické endokrinologii. In: Lisá, L. et al.: Poruchy sexuální diferenciace. Praha, Maxdorf Jesenius, 2001, s. 213-222.
8. Zucker, K. J.: Measurement of psychosexual differentiation. Arch. Sex. Behav., 2005., 34, s. 375-388

## Lázeňské sanatorium v Karlových Varech přijme do pracovního poměru lékaře

- atestace: interní lékařství I. stupně/chirurgie I. stupně/neurologie I. stupně, atestace FBLR vítána
  - znalost práce na PC
  - základní znalost 2 světových jazyků – německý, ruský, anglický výhodou
- předpokládá se bezúhonnost, zvýšená míra odpovědnosti, přesnosti, svědomitosti, spolehlivosti a asertivity při styku s hosty, schopnost rozhodování, vést a motivovat kolektiv pracovníků

#### Nabízíme:

- zajímavou práci v dynamicky rozvíjejícím se oboru fyzikální medicíny a rehabilitace
  - možnost ubytování
  - zajímavé platové podmínky
- další vzdělávání, odborný růst v oboru, možnost cestování v rámci prezentace společnosti

#### Kontakty:

telefonní čísla 352 511 100, 602 415 089  
e-mail: director@bohemia-lazne.cz

## PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

**Syndrom polycystických ovaríí v roce 2006**

Vrbíková J., Bendlová B.

*Endokrinologický ústav, Praha*

## SOUHRN

Syndrom polycystických ovaríí byl definován původně jako anovulace a chronická hyperandrogenémie (kritéria NIH), pozdější kritéria berou v potaz i přítomnost morfoložického nálezu polycystických ovaríí při sonografickém vyšetření (Rotterdamská definice). Kritéria NIH definují pacientky, které mají současně s hyperandrogenním stavem i výraznější doprovodné metabolické poruchy (inzulínovou rezistenci, obezitu). Patogeneze syndromu polycystických ovaríí není zatím dobře objasněná. Jedna z teorií o vzniku syndromu polycystických ovaríí předpokládá klíčovou poruchu vedoucí k plně vyvinutému syndromu v dysregulaci ovariiální steroidogenezy. Byla prokázána zvýšená exprese celé řady steroidogenních enzymů, pravděpodobně v důsledku nadměrné exprese transkripčních faktorů, např. GATA 6 a retinoidů. Od 90. let 20. století jsou v léčbě syndromu polycystických ovaríí užívány inzulínové senzitivátory. Bylo prokázáno, že pozitivně ovlivňují nejen inzulínovou senzitivitu a doprovodné metabolické poruchy, ale i ovariiální a adrenální steroidogenezi. Metformin a glitazony upravují anovulační cykly, avšak zatím provedené studie nebyly dostatečně zacílené na to, zda vedou i k větší šanci na úspěšně ukončenou graviditu. Přesná léčebná schémata pro ženy se syndromem polycystických ovaríí, v nichž by se uplatňovaly inzulínové senzitivátory, nejsou zatím stanovená.

**Klíčová slova:** syndrom polycystických ovaríí, steroidní hormony, inzulínová rezistence, metformin.

## SUMMARY

*Vrbíková J., Bendlová B.: Polycystic Ovary Syndrome in 2006*

Polycystic ovary syndrome was defined as the combination of anovulation and hyperandrogenaemia (NIH 1990). Another definition used the combination of ultrasonographic appearance of polycystic ovaries and/or anovulation and/or hyperandrogenaemia or cutaneous manifestations of hyperandrogenism (Rotterdam). The population defined according to NIH is probably in greater risk of insulin resistance and obesity. Pathogenesis of PCOS is not clear till now. Dysregulation of ovarian steroidogenesis could be one of the causes of the full-blown syndrome. Up-regulation of steroidogenic enzymes, probably due to the exaggerated expression of transcription factors such as GATA-6 or retinoids could be involved. Insulin sensitizers are now widely used in the therapy. They could beneficially modify not only insulin resistance and dyslipidaemia, but also ovarian and adrenal steroidogenesis. Metformin and glitazones improve anovulation however the studies conducted till now were not representative concerning the point of successful pregnancy.

**Key words:** polycystic ovary syndrome, steroid hormone, insulin resistance, metformin.

Vr:

*Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 218–222.*

### DIAGNOSTIKA SYNDROMU POLYCYSTICKÝCH OVARIÍ – „NOVÁ“ NEBO „STARÁ“ KRITÉRIA?

Syndrom polycystických ovaríí (PCOS) je jednou z nejčastějších endokrinopatií u žen ve fertilním věku (1). Přesto, že první popis v literatuře je z poloviny 19. století, stále zůstává mnoho nejasností týkajících se jak samotné definice syndromu, tak patogeneze tohoto onemocnění. Nejde o jednu přesně vymezenou chorobu, ale o syndrom se širokým spektrem fenotypických manifestací (2). Hlavními projevy, které toto onemocnění v různé kombinaci provázejí, jsou zvýšené hladiny androgenů (tj. tzv. hyper-

androgenémie) a jejich klinické projevy označované souhrnně jako hyperandrogenismus (tj. hirsutismus, akné a androgenní alopecie), oligo- nebo anovulace a konečně morfoložické změny na vaječnicích (sonografický obraz polycystických ovaríí – PCO).

Původně se podle konsenzu konference National Institute of Health (NIH) pořádané v roce 1990 morfoložické projevy na ovaríích k diagnóze syndromu nevyžadovaly a diagnóza byla postavena na klinických příznacích, tj. na kombinaci hyperandrogenémie nebo hyperandrogenizmu a chronické anovulace (3). V Evropě byla naopak, kromě klinických projevů, diagnóza PCOS stavěna na přítomnosti sonografického nálezu PCO. V roce 2003 se společný workshop (Rotter-

MUDr. Jana Vrbíková Ph.D.  
116 94 Praha 1, Národní 8  
fax: +420 224 905 325, e-mail: jvrbikova@endo.cz

damský konsenzus) evropských a amerických odborníků shodl na tom, že pro diagnózu PCOS stačí 2 z následujících tří symptomů: 1. PCO, 2. klinické projevy hyperandrogenizmu anebo laboratorní průkaz hyperandrogenémie a 3. oligo/anovulace (4).

Diagnóza PCOS je diagnózou per exclusionem a jejímu stanovení musí samozřejmě předcházet pečlivá diferenciální diagnostika. Je vždy třeba vyloučit jiné příčiny nadbytku androgenů (zejména tumoru s nadprodukcí androgenů, kongenitální adrenální hyperplazie, hyperprolaktinémie, tyreoidální dysfunkce či Cushingova syndromu), které by mohly působit stejné klinické projevy jako PCOS.

Pokud jsou užitá kritéria NIH, je PCOS prokazatelný u 5–10 % žen fertillního věku (5–7). Sonografický obraz PCO bez klinické symptomatologie hyperandrogenizmu se může vyskytovat jak u jinak zdravých žen, tak u celé řady jiných endokrinopatií (tzv. sekundární PCO). Po zavedení vaginální sonografie do běžné klinické praxe bylo zjištěno, že se obraz PCO vyskytuje u 20–30 % jinak asymptomatických žen (6, 8, 9). Klinické projevy PCOS pak byly přítomny jen u 30–70 % z nich. Pokud tedy použijeme kritéria ESHRE, může vycházet prevalence PCOS asi 15 % žen ve fertillním věku, tj. zhruba 3x tolik jako podle NIH (10).

Z některých studií se zdálo pravděpodobné, že pacientky spadající do diagnózy PCOS podle Rotterdamského konsenzu, budou mít menší výskyt metabolických rizik než ženy s PCOS podle NIH kritérií (11, 12), což recentně na velkém souboru žen s anovulační sterilitou ukázali holandské autoři (10).

V listopadu 2006 byl publikován konsenzus pracovní skupiny pro fenotypy PCOS při Androgen Excess Society (AES). Doporučuje přijmout kritéria NIH s určitými modifikacemi. Sine qua non pro diagnózu PCOS je hyperandrogenismus nebo hyperandrogenémie. Dále je ke stanovení diagnózy nutná buď oligo-anovulace anebo sonografický nálezn PCO. Posledním krokem pro stanovení diagnózy PCOS je vyloučení ostatních stavů, které mohou mít podobné projevy (13) (tab. 1, 2, 3).

## NOVÉ POZNATKY O ETIOPATOGENEZI PCOS

Perspektivní, i když experimentálně velmi náročnou metodou výzkumu ovariální steroidogeneze je kultivace izolovaných buněčných populací získaných při operacích na ovarii. V kulturách thekálních buněk odebraných ženám s PCOS je prokazatelná nadměrná produkce androgenů. Molekulárně genetické práce využívající metodiky studia genové exprese našly v souladu s tím zvýšenou expresi genů pro některé enzymy účastnící se ve steroidogenezi, jako je P450 cholesterol side chain cleavage enzyme (CYP11A1), P450 17 $\alpha$ -hydroxyláza a 17-20 lyáza (CYP17), a 3 $\beta$ -hydroxysteroiddehydrogenáza typu 2 (HSD3B2). Společným mechanismem, který je zodpovědný za upregulaci exprese těchto genů, by mohla být zvýšená transkripce genu pro transkripční faktor GATA 6. GATA 6 zasahuje do regulace exprese steroidogenních enzymů. Mechanizmy vedoucí ke zvýšené transkripci GATA 6 však nejsou zatím objasněny. Dalšími faktory ovlivňujícími steroidogenezi v ovariu jsou retinoidy. V kulturách thekálních buněk žen s PCOS byla nalezena vyšší exprese genů pro enzymy účastnící se v metabolismu a působení retinoidů, jako je retinol dehydrogenáza

**Tab. 1.** Diagnostická kritéria pro syndrom polycystických ovarii podle ESHRE/ASRM 2003

• alespoň 2 projevy z:  
klinické nebo laboratorní projevy hyperandrogenizmu  
oligo/anovulace  
sono obraz PCO

**Tab. 2.** Diagnostická kritéria pro syndrom polycystických ovarii podle AES 2006

klinické nebo laboratorní projevy hyperandrogenizmu  
oligo/anovulace a/nebo sono obraz PCO  
vyloučit ostatní hyperandrogenní stavy

**Tab. 3.** Diagnostická kritéria pro sonografický průkaz PCO

Zvětšený objem aspoň 1 ovaria nad 10 ml a/nebo přítomnost alespoň 12 malých folikulů s průměrem 2–9 mm.  
Není třeba hodnotit distribuci folikulů v ovariu.  
Vyšetření je třeba provést v časně folikulární fázi cyklu, je třeba vizualizovat obě dvě ovaria, i když k diagnóze stačí jednostranný nálezn.

RoDH4 a RoDH2 a retinoic acid binding protein II. Byla prokázána vyšší tvorba retinaldehydu, než je tomu u normálních žen (14).

Dalším důležitým ovariálním regulačním mechanismem je antimulleriánský hormon (AMH). AMH je dimerní glykoprotein, patřící do rodiny proteinů podobných TGF $\beta$  (tumor growth factor  $\beta$ ). V ovariu je AMH exprimován pouze postnatálně, a to jen v určitých stadiích folikulárního vývoje; exprese AMH je vysoká v buňkách granulózy malých preantrálních folikulů a vymizí ve stadiu velkých antrálních folikulů. U myší, u nichž byl vyřazen gen pro AMH, byl prokazatelný zrychlený průběh vývoje folikulů (snížení počtu primordiálních folikulů a naopak zvýšený počet rostoucích folikulů), což svědčí pro roli AMH jako negativního zpětnovazebného regulátora vstupu folikulů do růstové trajektorie. U žen s PCOS byla prokázána snížená exprese AMH v ovariu. S tím koresponduje i nálezn zvětšeného množství malých folikulů „zastavených“ na růstové trajektorii (folikuly na ni vstoupí ve zvýšeném množství, protože odpadá inhibiční vliv AMH (15)).

## NOVINKY V TERAPII

Poznatek o častějším výskytu inzulinové rezistence a diabetes mellitus 2. typu (DM2) u žen s PCOS, než je tomu u zdravé populace, vedl k tomu, že v roce 1994 byl prvně v léčbě těchto žen užit metformin. Po jeho podávání bylo popsáno snížení hladin androgenů a luteinizačního hormonu (LH), zlepšení inzulinové senzitivity, snížení hmotnosti a úprava menstruačního cyklu (16). Vstupními kritérii byla ve většině studií nadváha až obezita anebo hyperinzulinémie, na druhou stranu, ne vždy při klinicky úspěšné léčbě klesla

současné inzulinémie. Reprezentativní metaanalýza všech randomizovaných kontrolovaných studií s metforminem uzavírá, že metformin v porovnání s placebem signifikantně zvyšoval výskyt ovulace, s odds ratio 3,88 (CI 2,25–6,69) (17). Není zatím jasné, zda by léčba metforminem mohla být efektivní i u pacientek s PCOS a s normálním body mass indexem (BMI), bez inzulinové rezistence. Pro použití metforminu i u štíhlých žen s PCOS by mohlo hovořit například to, že metformin *in vitro* v buněčných kulturách získaných z ovariálních biopsií potlačuje syntézu androgenů (18), a může tedy působit i jiným mechanismem, který není závislý na ovlivnění inzulinové senzitivity.

Nastolení ovulačních cyklů při léčbě metforminem vedlo logicky k otázce, zda by metformin nemohl být účinný i v případech anovulační sterility. Standardním lékem první volby byl dosud clomifen citrát. Dostupné studie srovnávající úspěšnost léčby metforminem anebo clomifenem citrátem vyhovující kritériím evidence-based medicine shrnuje metaanalýza publikovaná nedávno (19). Metformin vedl k ovulaci v 47 %, což bylo o 50 % více nežli při užívání placeba. Zhodnocené studie ale nebyly dostatečně velké ani dostatečně dlouhé (maximálně trvaly 6 měsíců), aby mohly postihnout důležitější end-point, což je v léčbě sterility gravidita a porod zdravého plodu. Po publikování této metaanalýzy byla provedena půl roku trvající randomizovaná studie srovnávající u infertilních normostenických žen s PCOS procento ovulačních cyklů a dokončených gravidit při monoterapii metforminem anebo clomifencitrátem. Procento ovulačních cyklů se mezi oběma skupinami nelišilo (63 % po metforminu vs. 67 % po clomifenu), ale pacientky léčené metforminem měly 2x větší šanci otěhotnět (kumulativní procento gravidit 69 % vs. 34 %), v graviditě měly méně potratů (10 % vs. 38 %) a prokazovaly pozitivní trend k vyššímu počtu gravidit ukončených porodem živého plodu (20). Výsledky další podobné velké multicentrické dvojité slepé studie zatím nebyly uveřejněny. Antiestrogenní účinky clomifenu mají sice pozitivní efekt v odtlumení zpětné vazby v CNS a vyplavení gonadotropinů, nicméně projevují se i v reprodukčních orgánech, a mohou tak negativně ovlivnit šanci pacientek otěhotnět. Jedním z nových postupů v indukcii ovulace je v posledních letech léčba inhibitory aromatázy, které tyto vedlejší účinky nemají. U žen s PCOS zatím nebyla provedena žádná srovnávací studie těchto preparátů.

Lze shrnout, že metformin zlepšuje účinnost clomifenu v indukcii ovulace a zvyšuje i procento gravidit, ale není jasné, jaké jsou optimální dávky a schéma léčby. Není dále jasné, zda monoterapie metforminem je v léčbě sterility účinnější než clomifen a který z léků má být preparátem první volby.

Ve studiích prováděných v populaci s vysokým rizikem vzniku DM2 bylo při léčbě metforminem popsáno snížení výskytu diabetes mellitus (21). Dále se při léčbě metforminem u pacientů s DM2 snížil výskyt kardiovaskulárních komplikací, jako jsou cévní mozkové příhody a méně signifikantně i ischemická choroba srdeční (ICHS), ve srovnání s pacienty léčenými dietou a i ve srovnání s pacienty léčenými jak deriváty sulfonylurey, tak i inzulinem. Lze proto předpokládat, že příznivé působení metforminu na kardiovaskulární rizikové faktory má u diabetiků dopad i na morbiditu a mortalitu (22). Stejný příznivý efekt můžeme pravděpodobně čekat i u žen s PCOS, i když u nich zatím žádné

podobné dlouhodobé studie orientované na kardiovaskulární morbiditu a mortalitu provedeny nebyly. V krátkodobých studiích bylo u nich po užití metforminu popsáno mírné snížení LDL a HDL cholesterolu (23–25), snížení PAI-1 (26) a opakovaně snížení BMI nebo poměru obvodu pas/boky (WHR) (27, 28), tedy metformin u nich modifikoval příznivě řadu rizikových faktorů ICHS. Tyto účinky metforminu by teoreticky mohly být výhodné z hlediska metabolických změn navozených perorálními kombinovanými kontraceptivy (COC), která patří při léčbě PCOS k nejužívanějším. V literatuře ale zatím není dostatek prací, které by přinesly důkazy mluvící ve prospěch rutinního užívání této kombinované léčby. Jiným přístupem, který by měl pomoci řešit otázku, která léčba (COC vs. inzulinové senzitivátory) by byla výhodnější, jsou randomizované studie sledující užití COC v porovnání s metforminem. I těchto prací je ale zatím překvapivě málo, a tak definitivní doporučení není možné stanovit.

Podobné zkušenosti, jako jsou s metforminem, byly popsány i po užití thiazolidinů (29). V recentní randomizované studii snižoval pioglitazon hladiny androgenů srovnatelně jako metformin (30). Thiazolidiny jsou pokládány za lék druhé volby u těch žen, kde by byl indikován metformin, ale jeho užití není možné pro nežádoucí gastrointestinální vedlejší účinky, anebo pokud metformin neměl dostatečný efekt (31). Přesný mechanismus příznivého působení thiazolidinů není jasný. Kromě zlepšení periferní účinnosti inzulinu mohou totiž fungovat i přímo v ovariu, kde byla prokázána exprese PPAR $\gamma$  receptorů (32).

U obézních žen s PCOS je stále intervencí první volby, ať jde o úpravu menstruačního cyklu, léčbu hyperandrogenních projevů anebo o léčbu sterility, redukce hmotnosti a změna životního stylu. Observační studie opakovaně prokázaly, že redukce hmotnosti o cca 10 % výchozích hodnot vede k poklesu hladin androgenů a k obnovení ovulačních menstruačních cyklů (33, 34). Režimová opatření jsou proto u žen s PCOS, které mají nadváhu nebo jsou obézní, „léčbou“ první volby.

## VLASTNÍ ZKUŠENOSTI

Péče o pacientky s PCOS má v Endokrinologickém ústavu v Praze dlouholetou tradici (35). Spolupracuje na ní i s jinými obory (36, 37). V posledních několika letech je věnována zvláštní pozornost studiu výskytu inzulinové rezistence u žen s PCOS (38, 39), vztahu metabolického syndromu k PCOS (40, 41), možnostem léčby metforminem (42–44) anebo kontraceptivy (45, 46). V ambulanci pro hyperandrogenní stavy bylo vyšetřeno a je sledováno okolo 450 žen. Tato rozsáhlá kohorta umožňuje i studium genetického pozadí PCOS. Zatím bylo studováno 13 rizikových polymorfizmů v 11 vybraných kandidátních genech (44).

## ZÁVĚR

PCOS je onemocnění, které má díky svému častému výskytu a doprovodným metabolickým rizikům značné dopady na zdravotní péči. Je žádoucí věnovat pozornost jak zpřesnění definice syndromu, tak studiu metabolických rizik



u žen s PCOS. Dokud nebude objasněna etiopatogeneze tohoto syndromu, léčba bude stále symptomatická.

### Zkratky

AMH	– antimulleriánský hormon
BMI	– body mass index
CNS	– centrální nervová soustava
COC	– perorální kombinovaná kontraceptiva
CYP11A1	– cholesterol side chain cleavage enzyme
CYP17	– 17 $\alpha$ -hydroxyláza a 17–20 lyáza
DM2	– diabetes mellitus 2. typu
ESHRE	– European Society for Human Reproduction
HDL	– lipoprotein o vysoké hustotě (high density lipoprotein)
HSD3B2	– 3 $\beta$ -hydroxysteroiddehydrogenáza typu 2
ICHS	– ischemická choroba srdeční
LDL	– lipoprotein o nízké hustotě (low density lipoprotein)
LH	– luteinizační hormon
NIH	– National Institute of Health
PAI-1	– plazminogen aktivátor inhibitor typu 1
PCO	– sonografický obraz polycystických ovarií
PCOS	– syndrom polycystických ovarií
PPAR $\gamma$	– peroxizomovými proliferátory aktivovaný receptor gama
WHR	– poměr obvodu pas/boky (whist to hip ratio)

### LITERATURA

- Carmina, E., Lobo, R. A.:** Polycystic ovary syndrome (PCOS): arguably the most common endocrinopathy is associated with significant morbidity in women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999, 84, s. 1897-1899.
- Seli, E., Duleba, A. J.:** Should patients with polycystic ovarian syndrome be treated with metformin? *Hum. Reprod.*, 2002, 17, s. 2230-2236.
- Dunaif, A.:** Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr. Rev.*, 1997, 18, s. 774-800.
- Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum. Reprod.*, 2004, 19, s. 41-47.
- Diamanti-Kandarakis, E., Kouli, C. R., Bergiele, A. T. et al.:** A survey of the polycystic ovary syndrome in the Greek island of Lesbos: hormonal and metabolic profile. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999, 84, 4006-4011.
- Michelmore, K. F., Balen, A. H., Dunger, D. B., Vessey, M. P.:** Polycystic ovaries and associated clinical and biochemical features in young women. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*, 1999, 51, s. 779-786.
- Asuncion, M., Calvo, R. M., San Millan, J. L. et al.:** A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected Caucasian women from Spain. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000, 85, s. 2434-2438.
- Clayton, R. N., Ogden, V., Hodgkinson, J. et al.:** How common are polycystic ovaries in normal women and what is their significance for the fertility of the population? *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*, 1992, 37, s. 127-134.
- Polson, D. W., Adams, J., Wadsworth, J., Franks, S.:** Polycystic ovaries – a common finding in normal women. *Lancet*, 1988, 1, s. 870-872.
- Broekmans, F. J., Knauff, E. A., Valkenburg, O. et al.:** PCOS according to the Rotterdam consensus criteria: change in prevalence among WHO-II anovulation and association with metabolic factors. *Bjog*, 2006, 113, s. 1210-1217.
- Raskauskiene, D., Jones, P. W., Govind, A. et al.:** Do polycystic ovaries on ultrasound scan indicate decreased insulin sensitivity in sisters of women with polycystic ovary syndrome? *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2005, 90, s. 2063-2067.
- Loucks, T. L., Talbott, E. O., McHugh, K. P. et al.:** Do polycystic-appearing ovaries affect the risk of cardiovascular disease among women with polycystic ovary syndrome? *Fertil. Steril.*, 2000, 74, s. 547-552.
- Azziz, R., Carmina, E., Dewailly, D. et al.:** Criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an androgen excess society guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2006, 91, s. 4237-4245.
- Wickenheisser, J. K., Nelson-DeGrave, V. L., Hendricks, K. L. et al.:** Retinoids and retinol differentially regulate steroid biosynthesis in ovarian theca cells isolated from normal cycling women and women with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2005, 90, s. 4858-4865.
- Stubbs, S. A., Hardy, K., Da Silva-Buttkus, P. et al.:** Antimullerian hormone protein expression is reduced during the initial stages of follicle development in human polycystic ovaries. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2005, 90, s. 5536-5543.
- Velazquez, E. M., Mendoza, S., Hamer, T. et al.:** Metformin therapy in polycystic ovary syndrome reduces hyperinsulinemia, insulin resistance, hyperandrogenemia, and systolic blood pressure, while facilitating normal menses and pregnancy. *Metabolism*, 1994, 43, s. 647-654.
- Lord, J. M., Flight, I. H., Norman, R. J.:** Insulin-sensitising drugs (metformin, troglitazone, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2003, CD003053.
- Attia, G. R., Rainey, W. E., Carr, B. R.:** Metformin directly inhibits androgen production in human thecal cells. *Fertil. Steril.*, 2001, 76, s. 517-524.
- Kashyap, S., Wells, G. A., Rosenwaks, Z.:** Insulin-sensitizing agents as primary therapy for patients with polycystic ovarian syndrome. *Hum. Reprod.*, 2004, 19, s. 2474-2483.
- Palomba, S., Orio, F., Jr., Falbo, A. et al.:** Prospective parallel randomized, double-blind, double-dummy controlled clinical trial comparing clomiphene citrate and metformin as the first-line treatment for ovulation induction in nonobese anovulatory women with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2005, 90, s. 4068-4074.
- Knowler, W. C., Barrett-Connor, E., Fowler, S. E. et al.:** Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N. Engl. J. Med.*, 2002, 346, s. 393-403.
- Alberti, K. G., Zimmet, P. Z.:** Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet. Med.*, 1998, 15, s. 539-553.
- Fleming, R., Hopkinson, Z. E., Wallace, A. M. et al.:** Ovarian function and metabolic factors in women with oligomenorrhea treated with metformin in a randomized double blind placebo-controlled trial. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002, 87, s. 569-574.
- Kolodziejczyk, B., Duleba, A. J., Spaczynski, R. Z., Pawelczyk, L.:** Metformin therapy decreases hyperandrogenism and hyperinsulinemia in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.*, 2000, 73, s. 1149-1154.
- Moghetti, P., Castello, R., Negri, C. et al.:** Metformin effects on clinical features, endocrine and metabolic profiles, and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome: a randomi-

- zed, double-blind, placebo-controlled 6-month trial, followed by open, long-term clinical evaluation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000, 85, s. 139-146.
26. **Velazquez, E. M., Mendoza, S. G., Wang, P., Glueck, C. J.:** Metformin therapy is associated with a decrease in plasma plasminogen activator inhibitor-1, lipoprotein(a), and immunoreactive insulin levels in patients with the polycystic ovary syndrome. *Metabolism*, 1997, 46, s. 454-457.
  27. **Morin-Papunen, L. C., Vauhkonen, I., Koivunen, R. M. et al.:** Endocrine and metabolic effects of metformin versus ethinyl estradiol- cyproterone acetate in obese women with polycystic ovary syndrome: a randomized study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000, 85, s. 3161-3168.
  28. **Pasquali, R., Gambineri, A., Biscotti, D. et al.:** Effect of long-term treatment with metformin added to hypocaloric diet on body composition, fat distribution, and androgen and insulin levels in abdominally obese women with and without the polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000, 85, s. 2767-2774.
  29. **Azziz, R., Ehrmann, D., Legro, R. S. et al.:** Troglitazone improves ovulation and hirsutism in the polycystic ovary syndrome: a multicenter, double blind, placebo-controlled trial. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001, 86, s. 1626-1632.
  30. **Ortega-Gonzalez, C., Luna, S., Hernandez, L. et al.:** Responses of serum androgen and insulin resistance to metformin and pioglitazone in obese, insulin-resistant women with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2005, 90, s. 1360-1365.
  31. **Glueck, C. J., Moreira, A., Goldenberg, N. et al.:** Pioglitazone and metformin in obese women with polycystic ovary syndrome not optimally responsive to metformin. *Hum. Reprod.*, 2003, 18, s. 1618-1625.
  32. **Seto-Young, D., Paliou, M., Schlosser, J. et al.:** Direct thiazolidinedione action in the human ovary: insulin-independent and insulin-sensitizing effects on steroidogenesis and insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) production. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005, 90, s. 6099-6105.
  33. **Moran, L., Norman, R. J.:** Understanding and managing disturbances in insulin metabolism and body weight in women with polycystic ovary syndrome. *Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, 2004, 18, s. 719-736.
  34. **Pasquali, R., Casimirri, F., Vicennati, V.:** Weight control and its beneficial effect on fertility in women with obesity and polycystic ovary syndrome. *Hum. Reprod.*, 1997, 12 (Suppl. 1), s. 82-87.
  35. **Matys, Z., Stárka, L., Gregorová, I. et al.:** [Acanthosis nigricans associated with Stein-Leventhal syndrome insulin-resistant diabetes and aminoaciduria (author's transl)]. *Sb. Lek.*, 1977, 79, s. 33-41.
  36. **Raboch, J., Kobilková, J., Stárka, L.:** Sexual life of women with the Stein-Leventhal syndrome. *Arch. Sex. Behav.*, 1985, 14, s. 263-270.
  37. **Kobilková, J., Stárka, L., Hampl, R. et al.:** [Female patients after wedge-resection of the ovaries for Stein-Leventhal syndrome]. *Cesk. Gynekol.*, 1983, 48, s. 163-169.
  38. **Vrbíková, J., Cibula, D., Dvořáková, K. et al.:** Insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004, 89, s. 2942-2945.
  39. **Vrbíková, J., Bendlová, B., Hill, M. et al.:** Insulin Sensitivity and beta-Cell Function in Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Diabetes Care*, 2002, 25, s. 1217-1222.
  40. **Vrbíková, J., Vondra, K., Cibula, D. et al.:** Metabolic syndrome in young Czech women with polycystic ovary syndrome. *Hum. Reprod.*, 2005, 20, s. 3328-3332.
  41. **Vrbíková, J., Cífková, R., Jirkovská, A. et al.:** Cardiovascular risk factors in young Czech females with polycystic ovary syndrome. *Hum. Reprod.*, 2003, 18, s. 980-984.
  42. **Vrbíková, J., Bičíková, M., Tallová, J. et al.:** Homocysteine and steroids levels in metformin treated women with polycystic ovary syndrome. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 2002, 110, s. 74-76.
  43. **Vrbíková, J., Hill, M., Stárka, L. et al.:** The effects of long-term metformin treatment on adrenal and ovarian steroidogenesis in women with polycystic ovary syndrome. *Eur. J. Endocrinol.*, 2001, 144, s. 619-628.
  44. **Vrbíková, J., Hill, M., Stárka, L., Vondra, K.:** Prediction of the effect of metformin treatment in patients with polycystic ovary syndrome. *Gynecol. Obstet Invest.*, 2002, 53, s. 100-104.
  45. **Vrbíková, J., Stanická, S., Dvořáková, K. et al.:** Metabolic and endocrine effects of treatment with peroral or transdermal oestrogens in conjunction with peroral cyproterone acetate in women with polycystic ovary syndrome. *Eur. J. Endocrinol.*, 2004, 150, s. 215-223.
  46. **Cibula, D., Fanta, M., Vrbíková, J. et al.:** The effect of combination therapy with metformin and combined oral contraceptives (COC) versus COC alone on insulin sensitivity, hyperandrogenaemia, SHBG and lipids in PCOS patients. *Hum. Reprod.*, 2005, 20, s. 180-184.
  47. **Bendlová, B., Zavadilová, J., Vaňková, M. et al.:** Role of D327N sex hormone-binding globulin gene polymorphism in the pathogenesis of polycystic ovary syndrome. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*, 2007 (v tisku).

*Studie byly podpořeny granty IGA MZ 4847-3, 6696-3, 6558-3, 8759-3 a GAČR 301/04/1085.*

*Za excelentní asistenci při klinických studiích děkujeme personálu Laboratoře funkční diagnostiky, za četná nerutinní laboratorní stanovení pak Oddělení molekulární endokrinologie a Oddělení steroidních hormonů.*

## PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

## Neurosteroidy a jejich význam

Bičíková M., Hampl R.  
Endokrinologický ústav, Praha

## SOUHRN

Neurosteroidy jsou podskupinou neuroaktivních steroidů, které vznikají v centrální nervové soustavě. Vyznačují se negenomovými, rychlými účinky. Progesteronové nekonjugované metabolity, jejichž nejcharakterističtější zástupcem je allopregnanolon, převážně pozitivně modulují GABA<sub>A</sub> receptory. Tím dochází k uvolnění iontových kanálů pro Cl<sup>-</sup>. Výsledkem je účinek analgetický až hypnotický, anxiolytický a antikonvulzivní. Obecně platí, že sulfatáci se stávají GABA<sub>A</sub> negativními modulátory s účinkem opačným. Zástupci 19-uhlíkatých steroidů, dehydroepiandrosteron a jeho sulfát, jsou negativními modulátory GABA<sub>A</sub> receptorů s účinky excitačními a zvyšujícími paměť. Zároveň mohou působit jako pozitivní modulátory N-metyl-D-aspartátových (NMDA) receptorů, a tím uvolňovat iontové kanály pro Ca<sup>2+</sup>. Změněná, převážně snížená tvorba neurosteroidů může mít za následek řadu patologických stavů, například premenstruační syndrom, různé druhy deprese, některé formy epilepsie, přispívat k rozvoji Alzheimerovy nemoci atd. Dokonalé poznání tvorby neurosteroidů, možnost ovlivnění jejich metabolismu a znalost jejich působení umožní časem terapeutické využití těchto látek ať už k prevenci, nebo k léčbě řady i velmi závažných onemocnění.

**Klíčová slova:** enzymy, allopregnanolon, GABA<sub>A</sub>, NMDA, receptor.

## SUMMARY

*Bičíková M., Hampl R.: Neurosteroids and Their Function*

Neurosteroids are steroid structure hormones with neuroactive function. Neurosteroids have rapid, non-genomic actions in CNS. Non-conjugated metabolites of progesterone such as allopregnanolone, are potent positive modulators of GABA<sub>A</sub> receptors. They open ion channels for Cl<sup>-</sup> with analgetic, hypnotic, anxiolytic and anticonvulsant effects. By sulphatation the modulation on GABA<sub>A</sub> receptors is changed to negative with opposite effect. 19-C-steroids as dehydroepiandrosterone and its sulphate are negative modulators of GABA<sub>A</sub> receptors acting as an excitant and proconvulsant. They are able to modulate positively N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors and open ion canals for Ca<sup>2+</sup>. Changed (lowered) neurosteroid levels can be involved in many pathological processes as premenstrual syndrome, stress, depression, some forms of epilepsy, Alzheimer disease etc. Future study targeted on regulation of their production and metabolism and understanding of the mechanism of their actions will help to use them therapeutically.

**Key words:** enzymes, allopregnanolone, GABA<sub>A</sub>, NMDA, receptor.

*Bi.*

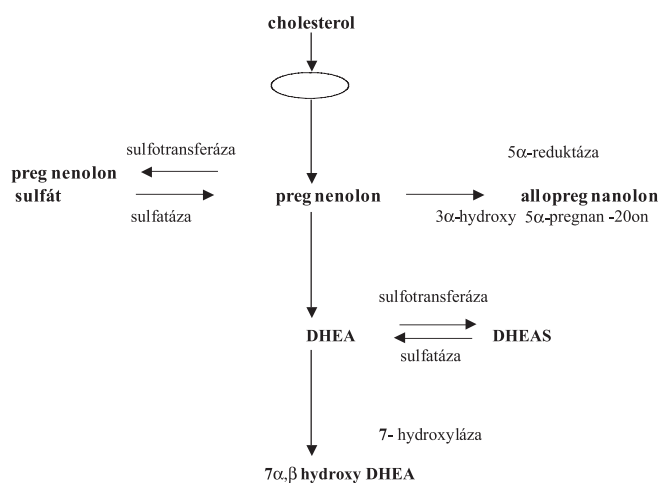
*Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 223–226.*

Přirozeně se vyskytující podskupina neuroaktivních steroidů (které mohou být i syntetické) se od začátku 80. let minulého století nazývá neurosteroidy (1). Jedná se o látky, které v centrální nervové soustavě (CNS) nejenom působí, ale také se v ní tvoří a mají schopnost se v nervovém systému akumulovat. Navíc jsou neurosteroidy částečně nezávislé na sekreci steroidogenních žláz. Tvoří se buď *de novo* z cholesterolu, nebo z prekursorů, které překonaly hematoencefalickou bariéru. Pro vznik neurosteroidů je nezbytná celá řada enzymů, jejichž aktivita může kolísat tak jako v klasických steroidogenních tkáních (gonády, nadledviny, placenta) a ovlivňovat tak produkci těchto látek. Do skupiny enzymů, které jsou pro tvorbu nejdůležitějších neurosteroidů rozhodující, patří hydroxysteroidní dehydrogenázy (HSD),

5 $\alpha$ -reduktáza, sulfatáza, sulfotransferáza a 7-hydroxyláza. Syntéza nejnámějších neurosteroidů je znázorněna na obrázku 1.

Brown et al. prokázali, že *de novo* syntéza pregnenolonu, prekursoru veškerých neurosteroidů probíhá v oligodendrocytech, ale ne v neuronech a astrocytech, kde dochází až k jejich metabolismu. Oligodendrocyty jsou podle těchto autorů nazývány steroid-syntetizující, neurony a astrocyty steroid-metabolizující (2).

Neurosteroidy mají na rozdíl od steroidů vznikajících v klasických steroidogenních tkáních kromě účinků genomových, pomalých, pomocí vazby na jaderné receptory, především účinky negenomové, rychlé, pomocí vazby na receptory neurotransmitterové ovlivňující propustnost iontových kanálů.



**Obr. 1.** Schéma biosyntézy nejznámějších neurosteroidů v nervovém systému  
Znáznorněna je činnost enzymů: 5 $\alpha$ -reduktázy, sulfotransferázy, sulfatázy a 7-hydroxylázy.

## 21 – UHLÍKATÉ STEROIDY

Metabolity progesteronu (nesulfátované) redukováné v poloze 5 $\alpha$  jsou pozitivními allostérickými modulátory GABA<sub>A</sub> receptorů, tím dochází ke zvýšené propustnosti Cl<sup>-</sup> iontů do buněk. Výsledkem pozitivní modulace je účinek analgetický, hypnotický, anxiolytický, antikonvulzivní a snižující paměť. Účinky jsou podobné benzodiazepinům ačkoliv se neurosteroidy vážou na jiná vazebná místa než benzodiazepiny. Nejznámějším a také nejhojněji studovaným zástupcem redukováných progesteronových metabolitů je allopregnanolon (3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-20-on). Zajímavé je, že sulfatací se progesteronové redukováné metabolity stávají GABA modulátory negativními, snižují propustnost iontových kanálů pro Cl<sup>-</sup> ionty s účinkem opačným, tedy stimulačním. Skutečnost, že jednotlivé neurosteroidy, podobně jako barbituráty a benzodiazepiny, ovlivňují prostupnost chloridových iontů v různé míře, je dána heterogenitou GABA<sub>A</sub> receptorových podjednotek v různých částech mozku.

Pregnenolon (Preg) a jeho sulfát (PregS) a také dehydroepiandrosteron (DHEA) a jeho sulfát (DHEAS) jsou považovány za pozitivní modulátory N-metyl-D-aspartátových (NMDA) receptorů s účinkem excitačním, paměť zvyšujícím. Mechanismus účinku spočívá v uvolnění iontového kanálu umožňující průnik Ca<sup>2+</sup> do nitra buňky. Následná aktivace kalcium-dependentních enzymů může při nedostatku kontraregulačních mechanismů vést až k oxidačnímu stresu (3).

Významným neuroaktivním steroidem, který podle Purdyho et al. vzniká pravděpodobně převážně v nadledvině, je tetrahydro-deoxykortikosteron (THDOC, 5 $\alpha$ -pregnan-3 $\alpha$ , 21-diol-20-on), ale v mozku se nachází ve značném množství. Původně neaktivní deoxykortikosteron (DOC) je aktivován redukcí kruhu A, podobně jako u přeměny progesteronu na allopregnanolon (4).

Pokusy na zvířatech ukázaly, že plazmatické koncentrace allopregnanolonu a THDOC se při akutním stresu zvyšují, zatímco nízké hladiny obou steroidů se nacházejí při stresu

chronickém (5, 6). Výsledný efekt na stav jedince je dán rovnováhou mezi „anti-convulzivními“ steroidy, jakými jsou allopregnanolon a THDOC na straně jedné a steroidy „proconvulzivními“ např. DHEAS a PregS na straně druhé (7).

Naše pracovní skupina se po řadu let zabývá problematikou neurosteroidů. Již v roce 1998 jsme uveřejnili článek o změnách hladin allopregnanolonu u žen s premenstruačním syndromem (8). Vycházeli jsme ze skutečnosti, že za normálních okolností kopíruje sérová hladina allopregnanolonu hladinu progesteronu. Ve zmíněné práci jsme poukázali na skutečnost, že u pacientek s premenstruačním syndromem (PMS) je hladina allopregnanolonu i progesteronu významně snížena ve srovnání se zdravými ženami. Změněné koncentrace allopregnanolonu u pacientek s PMS potvrdila i celá řada dalších autorů. Nejlépe je shrnuje i potvrzuje práce Monteleone et al. (9).

Další problematika, která je v souvislosti s neurosteroidy často studovaná, jsou různé druhy depresí. V naší práci, ve které jsme sledovali sérové hladiny několika neurosteroidů u žen trpících anxiózně-depresivními poruchami, jsme prokázali zvýšené hladiny PregS a 17-hydroxy-pregnenolonu, nikoliv ale allopregnanolonu, DHEAS a progesteronu (10). Několik studií včetně přehledové práce van Broekhoven a Verkese ve své souhrnné práci poukazují na snížené hladiny allopregnanolonu a THDOC u depresivních pacientů v plazmě i mozkomíšním moku a na úpravu těchto hladin po podávání inhibitorů zpětného vychytávání serotoninu (SSRI), provázené zlepšením příznaků deprese (11). Zároveň tyto autoři poukazují na zlepšení symptomů deprese po podávání DHEA. Jednoznačné závěry stále chybí a abychom mohli dospět k porozumění vztahu mezi patofyziologií deprese a neurosteroidů, vyvstává potřeba dalších klinických studií na homogenních skupinách pacientů (7).

Jednoznačně pozitivní účinek allopregnanolonu byl experimentálně prokázán také při léčbě katamenálních epilepsií, tedy epilepsií s kumulací záchvatů v závislosti na menstruačním cyklu (12).

Neopominutelné je využití neurosteroidů odvozených od progesteronu při studiu vzniku chronické tolerance k etanolu nebo abstinčních příznaků alkoholiků. Barbosa a Morato poukázali již v roce 2000 na skutečnost, že neurosteroidy mohou buď stimulovat, nebo blokovat vznik chronické tolerance k etanolu (13). Bez pochopení vzájemných souvislostí mezi neurosteroidy, jejich metabolismem a aktivací či inaktivací GABA a NMDA receptorů bude porozumění příslušným mechanismům a léčba alkoholizmu svízelná.

Allopregnanolon může být v těle metabolizován na nežádoucí produkty – například na výše zmíněný sulfát, který má opačné účinky než allopregnanolon volný. Proto je chemiky hledán derivát, který by zůstal v organizmu stabilní a přitom si zachoval aktivitu allopregnanolonu. Jedním z nadějných derivátů je  $\beta$ -metyl-allopregnanolon (ganaxolon), který podle experimentálních prací tyto požadavky splňuje.

## 19-UHLÍKATÉ STEROIDY

Ve skupině neurosteroidů je nejdůležitějším představitelem DHEA. Ve formě svého sulfátu DHEAS je vedle cholesterolu nejhojnější cirkulující steroid, přítomný v krvi v mikromolárních koncentracích. Hlavním zdrojem DHEA/S je kůra nadledvin. Tvoří se ale také v mozku, kde

se nachází ve velkém množství. V mozku pravděpodobně nevzniká DHEA enzymatickou cestou, ale neenzymovou oxidací (14).

Hladiny DHEA výrazně klesají s věkem u mužů i u žen a snížené hladiny jsou obvykle asociovány s degenerativními změnami ve stáří, zejména s poruchami imunitního a nervového systému. Odtud pojem „hormon mládí“, i když není hormonem v plném slova smyslu, protože nemá vlastní receptory a jeho účinky patří tedy mezi negenomové. Mezi známé příznivé biologické účinky přisuzované DHEA patří účinky antikancerogenní, antisklerotické, antidiabetické a antioběžní, imunostimulační a v neposlední řadě ovlivňující celkový pocit pohody (well-being). Rozsáhlá literatura na toto téma včetně monografií, např. Kalimi a Regelson, (15) a Hampl a Stárka (16) svědčí o neutuchajícím studiu problematiky kolem DHEA.

Mezi významné objevy posledních let patří důkazy, že DHEA působí imunomodulačně, respektive imunoprotektivně, a to především tím, že zmírňuje nepříznivé účinky glukokortikoidů. Předpokládá se, že je to právě působení na imunitní systém, které stojí za některými z výše uvedených příznivých účinků (17). DHEA patří mezi kandidáty náhradní steroidní terapie, na prvním místě u diabetiků. Zatímco hladiny DHEA(S) s věkem klesají, hladiny kortizolu se nemění či dokonce rostou. Vzhledem k prokázaným antiglukokortikoidním účinkům DHEA mnozí považují za vhodnější klinicko-biochemický ukazatel imunosenescence právě poměr cirkulujícího DHEA, resp. DHEAS ke kortizolu.

Specifickou kapitolou pak jsou účinky DHEA a jeho sulfátu na nervový systém včetně CNS. Jak již bylo zmíněno, DHEAS prostřednictvím modulace GABA<sub>A</sub> receptorů způsobuje zlepšení paměti. Většina pokusů je prováděna na hlodavcích, kteří nejsou nejvhodnějším modelem, protože u nich jsou koncentrace cirkulujícího DHEA(S) řádově nižší než u primátů, nicméně v mozku prokázány opakovaně byly (18).

Značná pozornost byla věnována sledování hladin DHEA(S) a jejich změn u lidí trpících psychickými a neuropsychickými poruchami. Obecně platí, že hladiny DHEA(S) korelují s ukazateli nálady, paměťových a dalších duševních schopností. Pozornost byla rovněž věnována změnám hladin DHEA(S) ve vztahu k úspěšnosti léčby antidepressanty, anxiolytiky a látkami snižujícími stres. Hladiny DHEA(S) byly sledovány u pacientů s panickými poruchami, u drogově závislých, u anorektiků, schizofreniků a u řady dalších nemocných a porovnávány s hodnotami zdravých osob stejného věku a pohlaví. Řada studií byla věnována nemocným s poruchami paměťových a dalších duševních funkcí, zejména dementních osob včetně nemocných s Alzheimerovou chorobou (AD).

V současnosti jsou k dispozici klinické studie, zabývající se dopadem náhradní steroidní terapie DHEA(S) na funkce CNS. Všeobecně se uznává, že podávání DHEA zlepšuje pocit pohody (well-being), což zahrnuje i subjektivní pocit vyšší energie a snížení pocitu únavy, lepší spánek, vše bez ovlivnění libida. Nejednoznačné jsou naproti tomu výsledky studií ovlivnění paměťových a percepčních schopností (18). Wolf a Kirschbaum (19) se pokusili o zhodnocení dosavadních placebo kontrolovaných studií s podáváním DHEA a jeho vlivu na kognitivní funkce u zdravých osob.

## 7-HYDROXYLOVANÉ METABOLITY DHEA JAKO NEUROSTEROIDY

DHEA je v organismu intenzivně metabolizován. Jedněmi z metabolitů jsou 7-hydroxylované deriváty, především 7 $\alpha$ -hydroxydehydroepiandrosteron (7 $\alpha$ -OH-DHEA) a jeho 7 $\beta$ -epimer (7 $\beta$ -OH-DHEA). Oba steroidy, spolu s meziproduktem jejich vzájemné přeměny, 7-oxo-dehydroepiandrosteronem (7-oxo-DHEA) jsou přítomny v cirkulaci v nanomolárních koncentracích. Donedávna byly považovány za pouhé degradační produkty, biologicky neúčinné. Hlavním místem jejich tvorby jsou játra, tvoří se však v řadě dalších tkání různých živočišných druhů i u člověka, především v mozku (20). Ukazuje se, že právě 7-hydroxylované metabolity DHEA, především 7 $\alpha$ -OH-DHEA i jeho 7 $\beta$ -epimer jsou lokálně účinnými působky, odpovědnými za některé příznivé imunoprotektivní a dokonce i neuroprotektivní účinky, připisované dosud DHEA (21). Neuroprotektivní účinky 7-OH-DHEA by mohly spočívat v jejich anti-apoptotickém působení, například v případě glukokortikoidy vyvolané apoptózy (22). Mechanismus těchto účinků není zatím jasný.

Hladiny DHEA a později i jeho 7-hydroxylovaných metabolitů byly měřeny u pacientů s neurodegenerativními poruchami, zejména u AD. Výsledky však byly nejednoznačné, byly popsány případy, kdy u nemocných byly nalezeny i vyšší hladiny uvedených steroidů. Přesnějším obrazem situace v mozku je stanovení uvedených steroidů v cerebrospinální tekutině (CSF). Naše nedávné výsledky se stanovením výše uvedených steroidů v CSF nemocných s prokázanou AD, u osob s vaskulární demencí a u kontrolní skupiny nedejmentních osob ukázaly, že u nemocných s AD vážně právě syntéza 7-hydroxylovaných metabolitů, spolu s tvorbou steroidních sulfátů (23). Poměr obou epimerů 7-OH-DHEA ku substrátu (DHEA) v CSF byl u těchto nemocných významně nižší. O významu jmenovaných steroidů svědčí naše další práce Bičiková et al. (24), zabývající se plazmatickými koncentracemi nejen neurosteroidů, ale také homocysteinu, ve vyšších koncentracích toxické aminokyseliny, která do značné míry závisí na steroidních hladinách. Ve stejném roce vyšla práce, která poukazuje na slibné výsledky použití 7 $\beta$ -metabolitu DHEA jako nového neuroprotektivního agens ve zvířecím modelu AD (25).

Zájem o neurosteroidy a jejich využití v medicíně neklesá. Svědčí o tom například nejčerstvější práce Brintona a Wanga (26). Autoři poukazují na terapeutický efekt allopregnanolonu, který je po průniku hematoencefalickou bariérou schopen nastartovat neurogenezi ve stárnoucí a degenerující mozkové tkáni. Výsledky jsou velice slibné a nezbývá než si přát, aby byly brzy uvedeny do lékařské praxe.

### Zkratky

AD	– Alzheimerova choroba
CNS	– centrální nervová soustava
CSF	– cerebrospinální tekutina
GABA	– kyselina $\gamma$ -aminomáselná
DHEA	– dehydroepiandrosteron
DHEAS	– dehydroepiandrosteron/sulfát
DOC	– deoxykortikosteron
HSD	– hydroxysteroidní dehydrogenáza
NMDA	– N-metyl D-aspartátový
PMS	– premenstruační syndrom

Preg	– pregnenolon
PregS	– sulfát pregnenolonu
7 $\alpha$ , $\beta$ -OH- DHEA	– 7 $\alpha$ , $\beta$ -dehydroepiandrosteron
SSRI	– inhibitor zpětného vychytávání serotoninu
THDOC	– tetrahydro-deoxykortikosteron

### LITERATURA

- Baulieu, E. E.:** In: Fuxe, K., Gustafson, J. A., Wetterberg, L. (eds.) Steroid Hormone Regulation of the Brain. Oxford, Wenner-Green Center International Symposium Series, Pergamon Press, 1981, 34, s. 3-14.
- Brown, R. C., Cascio, C., Papadopoulos, V.:** Pathways of neurosteroid biosynthesis in cell lines from human brain: Regulation of dehydroepiandrosterone formation by oxidative stress and b-amyloid peptide. *J. Neurochem.* 2000, 74, s. 847-859.
- Compagnone, N. A., Mellon, S. H.:** Neurosteroids: Biosynthesis and function of these novel neuromodulators. *Front. Neuroendocrinol.* 2000, 21, s. 1-56.
- Purdy, R. H., Morrow, A. L., Moore, S. H. Jr., Paul, S. M.:** Stress-induced elevation of g- aminobutyric acid type A receptor-active steroids in the rat brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88, s. 4553-4557.
- Barbaccia, M. L., Roscetti, G., Trabucchi, M. et al.:** Time dependent changes in rat brain neuroactive steroid concentrations and GABA<sub>A</sub> receptor function after acute stress. *Neuroendocrinology*, 1996, 63, s. 166-172.
- Dong, E., Matsumoto, K., Uzunova, V. et al.:** Brain 5 $\alpha$ -dihydroprogesterone and allopregnanolone synthesis in a mouse model of protracted social isolation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, 98, s. 2849-2854.
- Reddy, D. S.:** Pharmacology of endogenous neuroactive steroids. *Crit. Rev. Neurobiol.*, 2003, 15, s. 197-234.
- Bičíková, M., Dibbelt, L., Hill, M. et al.:** Allopregnanolone in women with premenstrual syndrome. *Horm. Metab. Res.*, 1998, 30, s. 227-230.
- Monteleone, S., Luisi, S., Tonetti, A. et al.:** Allopregnanolone concentrations and premenstrual syndrome. *E. J. Endocrinol.*, 2000, 142, s. 269-273.
- Bičíková, M., Tallová, J., Hill, M. et al.:** Serum concentrations of some neuroactive steroids in women suffering from mixed anxiety-depressive disorder. *Neurochem. Res.*, 2000, 251, s. 623-627.
- van Broekhoven, F., Verkes, R. J.:** Neurosteroids in depression: a review. *Psychopharmacology (Berlin)*, 2003, 165, s. 97-110.
- Stárka, L., Bičíková, M., Hill, M. et al.:** Estrogeny a psychické poruchy u žen. *Psychiatrie*, 2003, 7, s. 178-183.
- Barbosa, A. D., Morato, G. S.:** Effect of epipregnanolone and pregnenolone sulfate on chronic tolerance to ethanol. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2000, 67, s. 459-464.
- Brown, R. C., Cascio, C., Papadopoulos, V.:** Pathways of neurosteroid biosynthesis in cell lines from human brain: regulation of dehydroepiandrosterone formation by oxidative stress and beta-amyloid peptide. *J. Neurochem.*, 2000, 74, s. 847-859.
- Kalimi, M., Regelson, W.:** In: Dehydroepiandrosterone (DHEA), biochemical, physiological and clinical aspects. New York and Berlin, Walter de Gruyter, 2000.
- Hampl, R., Stárka, L.:** Dehydroepiandrosteron „hormon mládí“ ve světle současných poznatků. *Čas. Lék. čes.*, 1998, 137, s. 8-12.
- Kalimi, M., Shafagoj, Y., Loria, R. M. et al.:** Anti-glucocorticoid effects of dehydroepiandrosterone (DHEA). *Mol. Cell Biochem.*, 1994, 131, s. 99-104.
- Wolkowitz, O. W., Reus, V. I.:** Neuropsychiatric effects of dehydroepiandrosterone (DHEA). In: Kalimi, M., Regelson, W. (eds.) Dehydroepiandrosterone (DHEA), biochemical, physiological and clinical aspects. New York and Berlin: Walter de Gruyter, 2000, s. 270-298.
- Wolf, O. T., Kirschbaum, C.:** DHEA replacement and cognition in healthy elderly humans. A summary of results from placebo controlled experiments. In: DHEA and the brain, Ed R Morfin. London and New York, Taylor and Francis, 2002, s. 187-198.
- Morfin, R., Stárka, L.:** Neurosteroid 7-Hydroxylation products in the brain. *Int. Rev. Neurobiol.*, 2001, 46, s. 79-95.
- Akwa, Y., Sananes, N., Guezou, M. et al.:** Astrocytes and neurosteroids: metabolism of pregnenolone and dehydroepiandrosterone. Regulation by cell density. *J. Cell Biol.*, 1993, 121, s. 135-143.
- Trincal, M., Loeper, J., Pompon, D. et al.:** DHEA metabolism in the brain: production and effects of the 7 $\alpha$ -hydroxylated derivative. In: DHEA and the brain, Morfin, R. (ed.). London and New York, Taylor and Francis, 2002, s. 117-128.
- Kim, S. B., Hill, M., Kwak, Y. T. et al.:** Neurosteroids: cerebrospinal fluid levels for Alzheimer's disease and vascular dementia diagnosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003, 88, s. 5199-5206.
- Bičíková, M., Ripová, D., Hill, M. et al.:** Plasma levels of 7-hydroxylated dehydroepiandrosterone (DHEA) metabolites and selected amin-thiols as discriminatory tools of Alzheimer's disease and vascular dementia. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2004, 42, s. 518-524.
- Dudas, B., Hanin, I., Rose, M., Wulfert, E.:** Protection against neurodegeneration and glial cell death by 7beta-hydroxy epiandrosterone. A novel neurosteroid. *Neurobiol. Dis.*, 2004, 15, s. 262-268.
- Brinton, R. D., Wang, J. M.:** Therapeutic potential of neurogenesis for prevention and recovery from Alzheimer's disease: allopregnanolone as a proof of concept neurogenic agent. *Curr. Alzheimer Res.*, 2006, 3, s. 185-190.

Práce vznikla s částečnou podporou grantu IGA MZ ČR 1A 8637-3.

## PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

# Regulační síť transkripčních faktorů: klíčová role ve vývoji a funkci pankreatu

Lukášová P., Včelák J., Vaňková M., Vejražková D., Bendlová B.  
Endokrinologický ústav, Praha

## SOUHRN

Molekulárně–biologické studie vývoje pankreatu přinesly nové poznatky o příčinách vzniku MODY a diabetes mellitus 2. typu. Identifikace transkripčních faktorů, které jsou součástí regulační sítě a spolupodílejí se na procesech vývoje a normální funkce dospělého exokrinního i endokrinního pankreatu, umožnila lepší porozumění genetického pozadí a následných fenotypových projevů diabetu.

**Klíčová slova:** transkripční faktor, pankreas, mutace, polymorfismus, MODY, diabetes mellitus 2. typu, inzulin.

## SUMMARY

*Lukášová P., Včelák J., Vaňková M. et al.: Regulatory Network of Transcription Factors: Their Key Role in the Development and Function of Pancreas*

Recent molecular biological studies of the pancreatic development have shed new light on the cause of MODY and diabetes mellitus type 2. The identification of transcription factors participating in the regulatory networks cooperating in the development and in adult exocrine and endocrine pancreas enabled the better understanding of the genetic background and subsequent phenotypic features of diabetes.

**Key words:** transcription factor, pancreas, mutation, polymorphism, MODY, diabetes mellitus type 2, insulin. *Lu.*

Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 227–234.

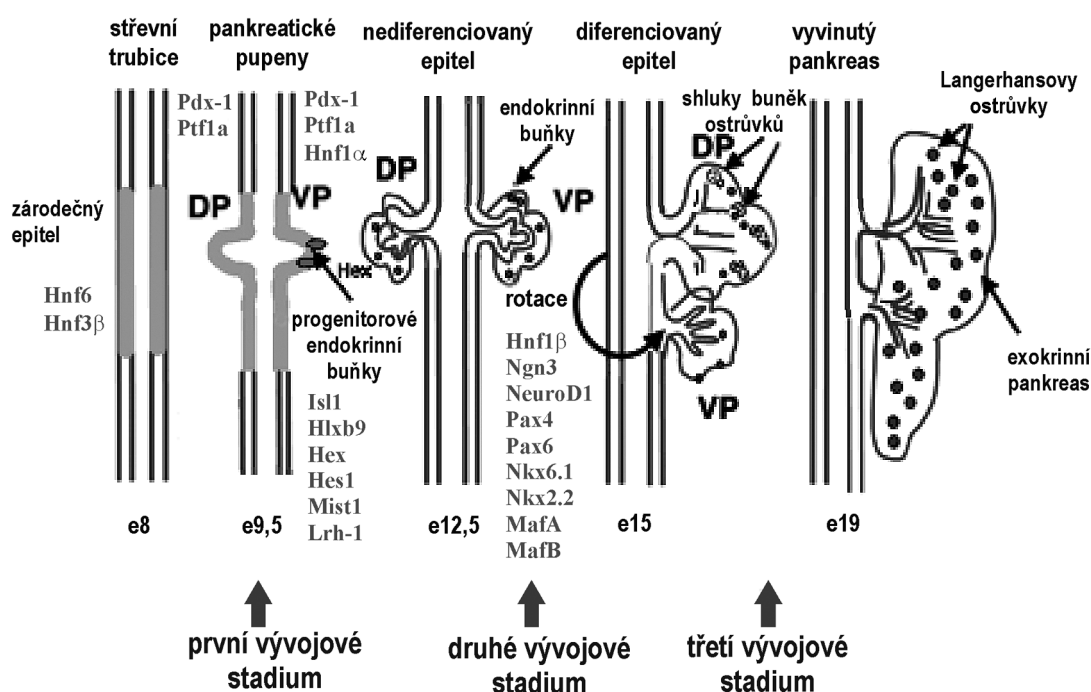
**T**ranskripční faktory jsou proteiny, které se spolupodílejí na iniciaci transkripce. Váží se na jednotlivé elementy promotory, čímž usnadňují vazbu příslušné RNA-polymerázy. Kromě obecných transkripčních faktorů, které jsou přítomné v každé buňce, existují i transkripční faktory speciální, které jsou specifické pro určitý typ buněk. Na jedné straně ovlivňují schopnost kmenových buněk zachovat si svůj nediferencovaný stav a na straně druhé jsou klíčovým regulačním faktorem v procesu diferenciaci, kdy působí jako přepínače při rozhodování a výběru jednotlivých vývojových drah během diferenciaci buněk embrya. Jsou nezbytné pro udržování genetického programu, a tím správné funkčnosti u dospělých diferencovaných buněk (1).

Současné studie vývoje pankreatu přinesly nové poznatky o příčinách rozvoje diabetes mellitus 2. typu. Nejlepším modelem pro identifikaci transkripčních faktorů, které ovlivňují expresi genů nezbytných pro ontogenetický vývoj a funkci dospělého pankreatu, jsou myší kmeny. Sleduje se fenotypový dopad cíleného vyřazení jednotlivých genů z funkce (target gene knockouts). Původně se předpokládalo, že jednotlivé transkripční aktivátory jsou specifické pro určitý fenotyp dané buňky. Ukázalo se však, že transkripční faktory působí jako tzv. regulační síť, kde některé faktory regulují transkripci dalších faktorů přímo vazbou na jejich

promotor, případně vazbou na jiná regulační místa v blízkosti jejich genů (enhancer, silencer). Každá buňka je tedy řízena nejen jedinečnou kombinací transkripčních faktorů, ale i specifickou sítí působení těchto faktorů.

## VÝVOJ PANKREATU

Pankreas tvoří tři typy buněčných tkání: exokrinní buňky produkující enzymy podporující trávení, endokrinní (Langerhansovy) buňky produkující hormony nezbytné pro udržení nutriční homeostázy a buňky spletitých rozvětvených kanálků. Studie na myších ukázaly, že vývoj pankreatu začíná během časného embryonálního vývoje z ventrálního a dorzálního pupenu endodermálních epitelových buněk odvozených od entodermálních buněk předního střeva (1, 2). Vzniká párový primordiální orgán tvořený především nediferencovaným dukterním epitelem (první vývojové stadium). Poté dorzální a ventrální základy pankreatu rotují a splývají v jeden orgán. Následuje diferenciaci exokrinního pankreatu z dukterních epitelových buněk. Současně dochází k mohutné proliferaci endokrinních buněk odvozených z kmenových progenitorových buněk středního endodermu (druhé vývojové stadium). Endokrinní buňky jsou přítomny už v časných stadiích vývoje pankreatu, ale pouze jako



**Obr. 1.** Schematické znázornění vývoje pankreatu u myši  
e8-e19 – dny embryonálního vývoje, DP – dorzální pupen, VP – ventrální pupen  
Uvedeny transkripční faktory exprimované v příslušných vývojových stádiích; třetí vývojové stadium (maturace endokrinních buněk)  
pokračuje další 2–3 týdny po narození.

jednotlivé buňky bez duktálního epitelu. Teprve ke konci embryonálního vývoje se endokrinní buňky začínají shlukovat do útvarů podobných ostrůvkům. Ke konečné reorganizaci a vytvoření zralých pankreatických ostrůvků dochází až v raném postnatálním vývoji (třetí vývojové stadium) (2) (obr. 1).

Regulační síť transkripčních faktorů nezbytných pro vývoj a funkci pankreatu je velmi složitá. Přestože poznatky o této síti jsou značné a stále nové přibývají, její komplexnost je natolik velká, že dosud nebyly objeveny všechny zúčastněné transkripční faktory a některé trasy nejsou kompletní (obr. 2). Během časných stadií vývoje pankreatu jsou exprimovány transkripční faktory Pdx-1, Ptf1a, Hlxb9, Isl1, Hex, Hes1, Mist1, Lrh-1, hepatocytární nukleární faktory Hnf6, Hnf3α a Hnf1β. Ve druhém vývojovém stadiu dochází k rozšíření regulační sítě o další transkripční faktory: Hnf1β, Ngn3, NeuroD1/Beta2, Pax4 a Pax6, Nkx6.1 a Nkx2.2, MafA a MafB (obr. 1). V dospělých pankreatických β-buňkách byla kromě aktivity výše uvedených transkripčních faktorů zjištěna exprese i hepatocytárních transkripčních faktorů Hnf3γ, Hnf4γ, Hnf4α a Hnf1α (1) (obr. 2).

### HEPATOCYTÁRNÍ NUKLEÁRNÍ FAKTORY (HNFs)

Hepatocytární nukleární faktory Hnf6, Hnf3β a Hnf1α se uplatňují ve všech vývojových stádiích pankreatické embryogeneze. V dospělých β-buňkách Hnf6 ovlivňuje expresi genu pro glukokinázu (GCK) a Hnf4α, jehož expresi reguluje i Hnf3β stejně jako transkripci Pdx-1 a Nkx2.2. Hnf1α se váže jako homodimer, nebo heterodimer s Hnf1β na DNA sekvence promotorů a enhancerů cílových genů, které kódují sérové proteiny s důležitou úlohou v glukózovém transportu

a metabolismu, ale i na promotory dalších transkripčních faktorů (obr. 2). Přímou aktivuje expresi inzulinového genu (obr. 3) a pozitivně reguluje enhancer genu Pdx-1 (3).

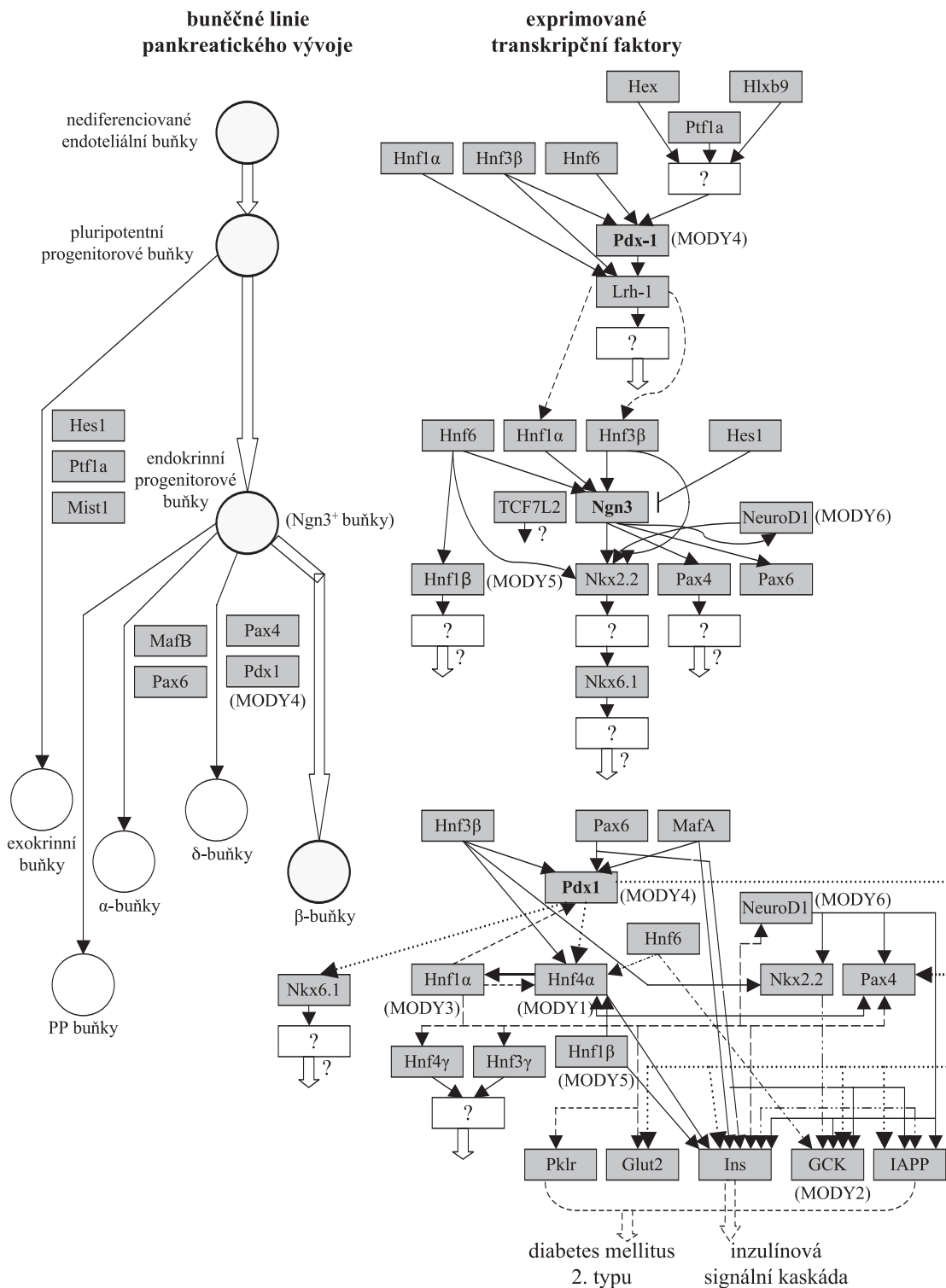
Hnf1β vykazuje vysoký stupeň strukturální homologie s Hnf1α. Přesný mechanismus jeho působení v pankreatické organogenezi (obr. 1, 2) není dosud objasněn, protože homozygotní mutace vedou ke smrti embrya ještě před dokončením vývoje pankreatu (4). V β-buňkách působí ve formě homodimeru, nebo heterodimeru s Hnf1α a reguluje expresi Hnf4α a genu pro inzulin (obr. 3).

Hnf4α v β-buňkách zpětnovazebně reguluje expresi Hnf1α a aktivuje expresi inzulinového genu (obr. 3). Funguje jako hlavní cílový gen signální kaskády regulační sítě hepatocytárních nukleárních faktorů, protože jeho P2 promotor obsahuje vazebné domény pro Hnf1α, Hnf1β, Hnf3β a Hnf6, ale i Pdx-1 a Pax4 (obr. 2).

### PANKREATICKÝ DUODENÁLNÍ HOMEBOX-1 (PDX-1)

Pankreatický duodenální homeobox-1 (Pdx-1), uváděný též pod názvem inzulinový promotorový faktor 1 (Ipf-1), je hlavním aktivátorem a regulátorem vývoje exokrinního i endokrinního pankreatu. Homozygotní mutace mají za následek agenezi pankreatu (5). Hraje klíčovou roli v prvním stadiu pankreatického vývoje (obr. 1, 2). Je rovněž nezbytný pro funkci dospělého pankreatu, kde je exprimován v β- i δ-buňkách, ovlivňuje transkripci genů pro inzulin a somatostatin (obr. 2). Jak napovídá jeho druhý název, nasedá přímo na promotor inzulinového genu (obr. 3). Kromě toho působí jako transkripční faktor na další geny specifické pro Langerhansovy buňky (obr. 2).





**Obr. 2.** Schematické znázornění exprese transkripčních faktorů během jednotlivých stadií vývoje pankreatu  
Transkripční faktory zodpovědné za vznik MODY jsou vyznačeny.  
? – dosud neidentifikované transkripční faktory, Pklr – pyruvát kináza

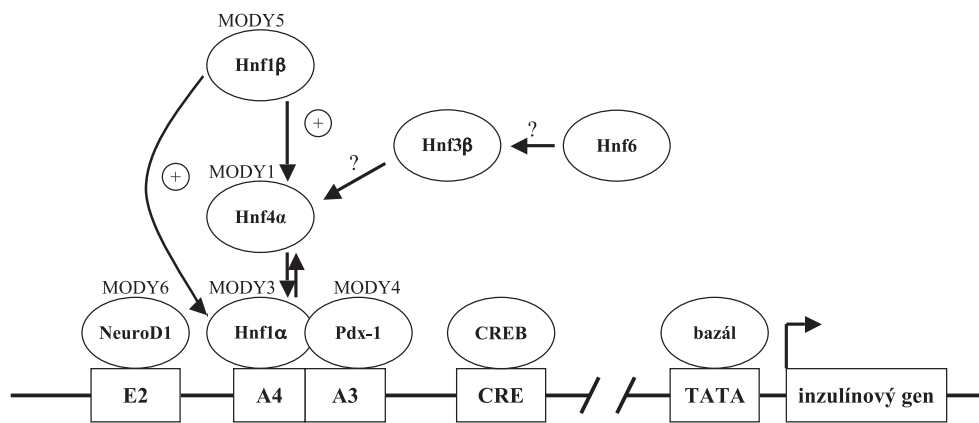
## LRH-1 (LIVER RECEPTOR HOMOLOG 1)

Lrh-1 hraje důležitou úlohu během embryonálního vývoje. Působí jako monomer a je exprimován v pankreatu (obr. 2), játrech, střevu, mozku a v pohlavních orgánech (vaječníky a varlata). V dospělosti hraje zásadní roli v regulaci cholesterolové homeostázy, neboť kontroluje expresi cholesterolu 7 $\alpha$ -hydroxylázy (6).

## EXOKRINNÍ PANKREAS

### Pankreatický specifický transkripční faktor 1a (Ptf1a) a Mist1

Pankreatický specifický transkripční faktor 1a (Ptf1a) i Mist1 jsou bHLH (basic helix-loop-helix) transkripční faktory specifické pro exokrinní pankreatické buňky. Ptf1a je iniciátorem diferenciaci všech progenitorových buněk-



**Obr. 3.** Kaskáda transkripčních faktorů - MODY genů, regulace transkripce inzulinového genu  
? – předpokládaná regulace, + – aktivace, E2-A4/A3 – enhancery, CRE – cAMP response element, CREB – cAMP response element-binding protein, bazál – bazální transkripční faktory

ných linií pankreatu z endodermálních buněk (7). V dospělém pankreatu je exprimován pouze v exokrinních buňkách (obr. 2).

Mist1 je důležitý pro správnou organizaci exokrinní tkáně během embryogeneze a pro aktivaci intracelulárních enzymatických pochodů (8) (obr. 2).

## ENDOKRINNÍ PANKREAS

### *Isl-1 (Isl-1)*

Isl-1 patří do rodiny transkripčních faktorů s motivem LIM/homeodomény. Je nezbytný pro vývoj pankreatu, ale i pro vývoj centrálního nervového systému. Cílený knockout Isl-1 vede k embryonální letalitě. Ve zralém pankreatu je exprimován ve všech buňkách Langerhansových ostrůvků produkujících hormony, váže se na oblast enhanceru inzulinového genu a ovlivňuje jeho expresi (9).

### *Neurogenin3 (Ngn3)*

Neurogenin3 patří do rodiny bHLH transkripčních faktorů. Ovlivňuje determinaci neuronálních prekurzorových buněk neuroektodermu a je dalším klíčovým transkripčním faktorem v organogenezi pankreatu zejména během druhého vývojového stadia. Řídí diferenciaci všech buněčných linií endokrinního pankreatu (10). Je negativně regulován bHLH transkripčním represorem Hes-1 (Hairy and Enhancer of Split) (obr. 2). Ve zralém pankreatu je exprese Ngn3 téměř nedekovatelná.

### *Neurogenin diferenciální protein (NeuroD1/Beta2)*

Neurogenin diferenciální protein (NeuroD1), označovaný též jako  $\beta$ -buněčný E-box transaktivátor 2 (Beta2), je bHLH transkripční faktor nezbytný pro konečnou diferenciaci neuronů a funkci neuroendokrinních buněk. Během embryogeneze pankreatu řídí morfogenezi endokrinních buněk (obr. 2). Ve zralém pankreatu působí jako heterodimer, se všudypřítomným bHLH proteinem E47 se váže na důležitou oblast, tzv. E-box - inzulinového promotoru, čímž přímo ovlivňuje expresi inzulinového genu (obr. 3), kromě toho se váže i na promotory GCK, IAPP, Nkx2.2 a Pax4 (11) (obr. 2).

### *Pax4 a Pax6*

Pax4 (paired-box) je homeoprotein, k jehož expresi dochází výlučně v centrálním nervovém systému a při vývoji pankreatu, kdy podporuje diferenciaci  $\beta$ - a  $\delta$ -buněk (obr. 1, 2). Při porodu je jeho exprese omezena pouze na pankreatické  $\beta$ -buňky (12) (obr. 2).

Pax6 je homeoprotein nezbytný při organogenezi oka, centrálního nervového systému, nosu a endokrinního pankreatu. V dospělých  $\beta$ -buňkách se váže na promotor genu pro inzulin, somatostatin, glukagon, IAPP, Pdx-1 a GCK (13) (obr. 2).

### *Nkx2.2 a Nkx6.1*

Nkx2.2 a Nkx6.1 náleží do rodiny homeoproteinových transkripčních faktorů. Nkx2.2 reguluje diferenciaci progenitorových  $\beta$ -,  $\delta$ - a PP buněk (nikoliv  $\alpha$ -buněk) endokrinního pankreatu (14). Váže se na promotory inzulinového genu, IAPP a GCK genu. Nkx6.1 je exprimován v  $\beta$ -buňkách dospělého pankreatu. Je aktivován Pdx-1 (obr. 2).

### *MafA a MafB*

MafA a MafB jsou transkripční faktory s motivem leucिनového zipu, které účinkují ve formě homodimerů. MafA se účastní organogeneze pankreatu a ve zralých  $\beta$ -buňkách reguluje glukózou stimulovanou inzulinovou sekreci aktivací inzulinového promotoru (15) (obr. 2).

MafB je exprimován během organogeneze pankreatu. Krátce po porodu se jeho aktivita omezuje pouze na pankreatické  $\alpha$ -buňky produkující glukagon (16) (obr. 2).

### *TCF7L2 (transcription factor 7-like2)*

Poměrně nedávno byl objeven další transkripční faktor, který se účastní pankreatické embryogeneze, TCF7L2 (transcription factor 7-like2), který náleží do rodiny T-buněčných faktorů (TCF/lymphoidenhancing factor). Bylo prokázáno, že TCF7L2 je exprimován téměř ve všech buňkách (srdce, placenta, žaludek, střevo, mozek, játra, ledviny, pankreas, adipocyty) nikoliv však v buňkách kosterního svalstva. Studie na myších modelech ukázaly, že během embryonálního pankreatického vývoje exprese TCF7L2 úzce koreluje s expresí Ngn3 (obr. 2). V dospělých pankreatických  $\beta$ -buňkách nebyla exprese TCF7L2 prokázána (17).

## ROLE TRANSKRIPČNÍCH FAKTORŮ V PATOGENEZI DIABETES MELLITUS

S ohledem na klíčovou roli v organogenezi a při kontrolování genetického programu *in vivo* v buňkách pankreatu je zřejmé, že mutace a polymorfizmy v genech popsaných transkripčních faktorů mají za následek zhoršenou funkci pankreatu (obr. 2).

Diabetes mellitus 2. typu (DM2) vzniká v důsledku inzulínové rezistence v kombinaci se snížením, nebo s deregulací inzulínové sekrece. Prevalence choroby roste s věkem a vyšší tělesnou hmotností. Náchylnost jedince k penetranci onemocnění v důsledku změn vnějších podmínek však pravděpodobně určují genetické faktory. Za velký úspěch v objasňování genetických příčin diabetes mellitus 2. typu je považována identifikace genů způsobujících tzv. MODY, nicméně genetické pozadí DM2 zůstává relativně málo objasněno.

### MODY

MODY (maturity-onset diabetes of the young) je zvláštním typem DM, představuje přibližně 5 % všech případů DM2. MODY je charakterizováno spolu s časným nástupem choroby a primárním defektem glukózou stimulované inzulínové sekrece i autozomálně dominantní dědičností. Mutace v jediném genu je příčinou vzniku diabetes mellitus. Proto je genetická analýza MODY rodin snazší než u polygenního DM 2. typu. Genetické studie ukázaly, že za plných pět z dosud šesti popsaných forem MODY jsou zodpovědné mutace v transkripčních faktorech. Jedná se o Hnf4α/MODY1, Hnf1α/MODY3, Pdx-1(Ipf-1)/MODY4, HNF1β/MODY5 a NeroD1/MODY6 (tab. 1). Všechny tyto transkripční faktory ovlivňují transkripci inzulínového genu (obr. 3). MODY2 je způsobeno heterozygotními inaktivační-

mi mutacemi v GCK genu (tab. 1). Předpokládá se, že další geny zodpovědné za rozvoj MODY budou objeveny, protože 15–20 % MODY pacientů nevykazuje asociaci s žádným se zmíněných genových lokusů (18).

### Diabetes mellitus 2. typu

Diabetes mellitus 2. typu (DM2) je polygenní onemocnění, kdy mutace/polymorfismus v jednom genu mají za následek pouze zvýšené riziko rozvoje nemoci. Za polymorfismus se považuje variabilita v nukleotidové sekvenci, která se vyskytuje u více než 1 % populace. Polymorfismus má menší fenotypový dopad než mutace. Pomocí vazebné (linkage) analýzy, během níž se sleduje asociace příslušného genového lokusu s onemocněním, byla objevena souvislost mezi DM2 a řadou jednonukleotidových polymorfismů v některých genech pro zde popsané transkripční faktory. Patří mezi ně i polymorfizmy v MODY genech. Rozdílné populace mají rozdílný genofond, proto se u jednotlivých etnik závislosti polymorfismů a DM2 mohou lišit.

### Polymorfizmy v genu pro hepatocytární nukleární faktor 4α

Gen Hnf4α se nachází na 20. chromozómu v oblasti 20q12–13.1, kde byly vazebnými studiemi nalezeny u diabetiků 2. typu asociované polymorfizmy, zejména poblíž oblasti P2 promotoru, který je primární pro β-buňky. Polymorfismus rs2144908 (G>A) v blízkosti P2 promotoru vykazuje nejsilnější asociaci s DM2 u populace Aškenazi Židů (19), u finské (20) a britské populace (21). Oproti tomu v polské populaci se frekvence minoritních alel polymorfismů rs2144908 a rs4810424 u diabetiků 2. typu a kontrol nelíšila (22), u francouzské populace dokonce vyšla minoritní alela A polymorfismu rs2144908 jako protektivní vzhledem k DM2 (23).

Tab. 1. Přehled MODY genů a jejich základní charakteristika

	<b>MODY 1</b> <i>Hnf4α</i>	<b>MODY 2</b> <i>GCK</i>	<b>MODY 3</b> <i>Hnf1α</i>	<b>MODY 4</b> <i>Pdx-1 (Ipf-1)</i>	<b>MODY 5</b> <i>Hnf1β</i>	<b>MODY 6</b> <i>NeuroD1</i>
chromozómový lokus	20q12–q13.1	7p15–13	12q24.1	13q12.1	17cen–q21.3	2q32
frekvence	nízká (<5 %)	vysoká (15–60 %)	vysoká (30–75 %)	velmi nízká (<4 %)	velmi nízká (<1 %)	velmi nízká
počátek choroby	adolescence, časná dospělost (<30 let)	dětství (od narození)	adolescence (<35 let)	časná dospělost (<35 let)	adolescence (<25 let)	dospělost (<40 let)
primární defekt	pankreas/játra/ ledviny	pankreas/játra/ střeva/mozek	pankreas/játra/ ledviny	pankreas/jiné?	pankreas/ledviny/ jiné?	pankreas/střeva/ mozek
funkce působení na inzulínový gen	transkripční faktor	enzym	transkripční faktor	transkripční faktor	transkripční faktor	transkripční faktor
mutace	nepřímé (přes Hnf1α)	–	přímé	přímé	přímé/nepřímé	přímé
mutace	bodové, delece	bodové, delece, rozsáhlé delece	bodové, delece, inverze	bodové, delece	bodová, delece	bodová, inserce
stupeň postižení	závažné, velká progrese	mírné, neprogreduje	závažné, velká progrese	střední	těžší	střední/ těžší
komplikace diabetes mellitus	časté	zřídka	časté	zřídka ?	diabetická nefropatie	zřídka ?
jiné komplikace		snížená porodní váha	nízký renální práh, acidourie	homozygotita = ageneze pankreatu	renální cysty, proteinurie, renální selhání	
léčba	PAD, inzulín	dieta, PAD	PAD, inzulín	PAD, inzulín	inzulín	PAD, inzulín

Polymorfismus v kódující oblasti T130I (záměna threoninu za izoleucin) postihuje DNA-vazebnou doménu. Z evropských populací byl popsán u DM2 v Dánsku (24), kde byl zkoumán i polymorfismus V255M (záměna valinu za methionin). Oba polymorfizmy vykazovaly snížení transkripční aktivity Hnf1 $\alpha$ , ale u V255M nebyla zjištěna vyšší frekvence minoritní alely u DM2 oproti kontrolám, nicméně nositelé této alely měli sníženou sérovou hladinu lačného C-peptidu.

#### **Polymorfizmy v genu pro hepatocytární nukleární faktor 1 $\alpha$**

Obecné varianty v genu Hnf1 $\alpha$  A98V (záměna alaninu za valin) a I27L (záměna izoleucinu za leucin) jsou celosvětově rozšířeny a byly popsány v souvislosti se zhoršenou inzulínovou sekrecí. Silnější asociace s DM2 byla zjištěna u I27L (25). Nejvíce zkoumaným polymorfismem je A98V, který vykazuje asociaci s DM2 u celé řady populací. Nicméně v některých rozsáhlých populačních studiích byl zjištěn pouze pravděpodobný vliv polymorfismu na zvýšené riziko vzniku onemocnění. Avšak například ve skandinávské populaci byla nalezena spojitost mezi polymorfizmy A98V, I27L, ale i S487N (záměna serinu za asparagin) a sníženou transkripční aktivitou Hnf1 $\alpha$  v oblasti promotoru glukózového transportéru Glut2, sníženou glukózou stimulovanou sekrecí inzulínu, zvýšenou inzulínovou senzitivitou a vyšším rizikem DM2 zejména u starších jedinců (>60 let) s nadváhou (BMI>25 kg/m<sup>2</sup>) (26).

#### **Polymorfizmy v genu pro pankreatický duodenální homeobox-1**

S ohledem na klíčovou roli v embryogenezi pankreatu a na přímý vliv na inzulínovou sekreci v dospělých  $\beta$ -buňkách patří gen pro pankreatický duodenální homeobox-1 (Pdx-1) mezi největší kandidáty účastníci se patogeneze DM. Nejrozšířenější mutací v evropské populaci je D76N (záměna kyseliny asparagové za asparagin) (27, 28). Mezi další popsané substituce patří C18R (záměna cysteinu za arginin) a R197H (záměna argininu za histidin) ve Velké Británii (27), Q59L (záměna lyzinu za leucin) a insP243 (inzerce prolinu na 243. pozici) ve Francii (28) a G212R (záměna glycinu za arginin) a P239Q (záměna prolinu za glutamin) ve Skandinávii (29). Zmíněné mutace mají za následek sníženou vazebnou aktivitu Pdx-1 na inzulínový promotor a následnou sníženou transkripci inzulínu, což vede k hyperglykémii. Předpokládá se, že výskyt těchto mutací může v některých populacích dosahovat >1 %.

#### **Polymorfismus v genu pro neurogení diferenciací protein**

Dosud byl popsán jediný obecný polymorfismus A45T (záměna alaninu za threonin) v genu NeuroD1 (30, 31), který je spojován se zhoršenou sekrecí C-peptidu. Někdy je uváděn v souvislosti s DM2 (30), ale častěji s DM1 (31).

#### **Polymorfizmy v genu pro neurogenin3**

Celosvětově rozšířeným polymorfismem v Ngn3 genu je S199F (záměna serinu za fenylalanin), který způsobuje vyšší hladinu lačné glykémie, sérového C-peptidu a lačného inzulínu. Také další nalezený polymorfismus G167R (záměna glycinu za arginin) zasahuje do konzervativní sekvenční oblasti genu (stejně jako S199F) a minoritní alela s sebou nese zvýšené riziko vzniku DM2 (32).

#### **Polymorfismus v genu pro Pax4**

Polymorfismus v Pax4 genu byl popsán v Japonsku u cca 2 % diabetiků 2. typu. Jedná se o polymorfismus R121W (záměna argininu za tryptofan), který vede ke snížení vazebné aktivity transkripčního faktoru, byl také pozorován rychlejší rozvoj inzulínové deficience (33).

#### **Polymorfizmy v genu pro TCF7L2**

Populační vazebné studie potvrdily asociaci velkého množství polymorfizmů v genu TCF7L2 s DM2 u jedinců z nejrůznějších etnických skupin. Uvádět seznam všech s DM2 asociovaných polymorfizmů přesahuje rámec tohoto článku. Důležité však je zmínit, že u evropské bělošské populace nejsilnější asociaci s DM2 vykazuje polymorfismus rs7903146 (IVS3C>T) a rs12255372 (IVS4G>T) (17).

### **ZÁVĚR**

Transkripční faktory hrají zásadní roli při vývoji pankreatu, ale i při koordinování jeho funkce v době dospělosti. Genetické mutace na úrovni transkripčních faktorů mají velké fenotypové dopady – řada mutací není slučitelná se životem, jiné jsou příčinou těžkých monogenních forem diabetu – tzv. MODY. V tomto článku jsme se zaměřili na polymorfizmy, jejichž dopad není tak zásadní, nicméně zhoršují funkci pankreatu a přispívají tak k rozvoji běžných forem diabetes mellitus 2. typu. Nyní je v souvislosti s DM2 velmi intenzivně studován poslední zmíněný gen pro TCF7L2, který je označován za „kandidátní gen DM2 roku 2006“. Na oddělení jsme též studovali několik zde popsaných polymorfizmů v genech pro transkripční faktory HNF1 $\alpha$  (34–36), HNF1 $\beta$  (37), NeuroD1 (38), Ngn3 (39) a v pilotní studii i polymorfismus v genu Pax4. Studie byly prováděny na souboru diabetiků 2. typu, gestačních diabetiček, pacientek se syndromem polycystických ovarií, potomků diabetiků 2. typu a zdravých kontrolních jedinců.

V současné době byly zveřejněny studie, kdy do duktálních buněk dospělého lidského pankreatu byl pomocí adenoviru vnesen Ngn3 gen, který se poté začal exprimovat. Tato ektopická exprese transkripčního faktoru klíčového v pankreatické embryogenezi měla za následek konverzi už diferenciovaných duktálních buněk na inzulín–exprimující  $\beta$ -buňky, byla zjištěna i exprese dalších genů (NeuroD1, Pax4, Pax6, Nkx2.2. a Nkx6.1), které jsou přímo řízeny Ngn3 během embryogeneze. Do budoucna se tím otevírá otázka využití genové terapie při léčbě DM (40).

#### **Zkratky**

bHLH	– basic helix-loop-helix
DM	– diabetes mellitus
DM2	– iabetes mellitus 2. typu
GCK	– genu pro glukokinázu
Hnfs	– hepatocytární nukleární faktory
IAPP	– amylin (islet anulooid polypeptide)
Ipf-1	– inzulínový promotorový faktor 1
Isl-1	– Islet-1
MafA a MafB	– transkripční faktory s motivem leucinového zipu
Mist1	– clas II bHLM protein

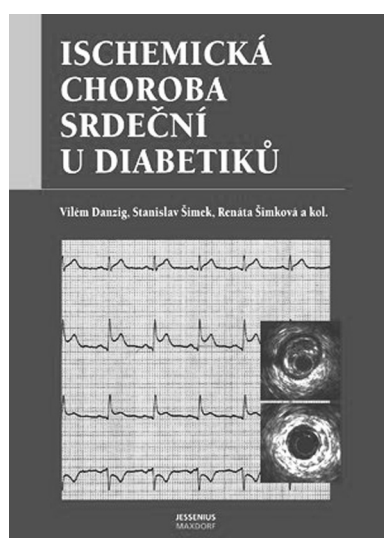
MODY	– maturity-onset diabetes of the young
NeuroD1	– neurogenní diferenační protein
Nkx2.2 a Nkx6.1	– homeoproteinové transkripční faktory
Pax4 a Pax6	– homeoproteiny (paired-box)
Pdx-1	– pankreatický duodenální homeobox-1
Ptf1 $\alpha$	– pankreatický specifický transkripční faktor 1 $\alpha$
RNA	– kyselina ribonukleová
TCF7L2	– transkripční faktor (transcription factor 7-like2)

### LITERATURA

1. **Servitja, J. M., Ferrer, J.:** Transcriptional networks controlling pancreatic development and beta cell function. *Diabetologia*, 2004, 47, s. 597-613.
2. **Habener, J. F., Kemp, D. M., Thomas, M. K.:** Minireview: transcriptional regulation in pancreatic development. *Endocrinology*, 2005, 146, s. 1025-1034.
3. **Ben-Shushan, E., Marshak, S., Shoshkes, M. et al.:** A pancreatic  $\beta$ -cell-specific enhancer in the human PDX-1 gene is regulated by hepatocyte nuclear factor 3 $\beta$  (HNF-3 $\beta$ ), HNF-1 $\alpha$ , and SPs transcription factors. *J. Biol. Chem.*, 2001, 276, s. 17533–17540.
4. **Coffinier, C., Thepot, D., Babinet, C. et al.:** Essential role for the homeoprotein vHNF1/HNF1beta in visceral endoderm differentiation. *Development*, 1999, 126, s. 4785-4794.
5. **Stoffers, D. A., Zinkin, N. T., Stanojevic, V. et al.:** Pancreatic agenesis attributable to a single nucleotide deletion in the human IPF1 gene coding sequence. *Nature Genetics*, 1997, 15, s. 106-110.
6. **Annicotte, J. S., Fayard, E., Swift, G. et al.:** Pancreatic-duodenal homeobox 1 regulates expression of liver receptor homolog 1 during pancreas development. *Mol. Cell Biol.*, 2003, 23, s. 6713-6724.
7. **Kawaguchi, Y., Cooper, B., Gannon, M. et al.:** The role of the transcriptional regulator Ptf1a in converting intestinal to pancreatic progenitors. *Nat. Genet.*, 2002, 32, s. 128-134.
8. **Pin, C. L., Rukstalis, J. M., Johnson, C., Konieczny, S. F.:** The bHLH transcription factor Mist1 is required to maintain exocrine pancreas cell organization and acinar cell identity. *J. Cell Biol.*, 2001, 155, s. 519-530.
9. **Tanizawa, Y., Riggs, A. C., Dagogo-Jack, S. et al.:** Isolation of the human LIM/homeodomain gene islet-1 and identification of a simple sequence repeat polymorphism [corrected]. *Diabetes*, 1994, 43, s. 935-941. Erratum in: *Diabetes*, 1994, 43, s. 1171.
10. **Gradwohl, G., Dierich, A., LeMeur, M., Guillemot, F.:** Neurogenin3 is required for the development of the four endocrine cell lineages of the pancreas. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, 97, s. 1607-1611.
11. **Moates, J. M., Nanda, S., Cissel, M.A. et al.:** BETA2 activates transcription from the upstream glucokinase gene promoter in islet beta-cells and gut endocrine cells. *Diabetes*, 2003, 52, s. 403-408.
12. **Stuart, B. S., Rosa, G., Hirotaka, W. et al.:** Neurogenin3 and Haptic Nuclear Factor 1 Cooperate in Activating Pancreatic Expression of Pax4. *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, s. 38254–38259.
13. **Sander, M., Neubüser, A., Kalamaras, J. et al.:** Genetic analysis reveals that Pax6 is required for normal transcription of pancreatic hormone genes and islet development. *Genes Dev.*, 1997, 11, s. 1662-1673.
14. **Hirotaka, W., David, W. S., Joey, L., Michael, S. G.:** Distinct Gene Expression Programs Function in Progenitor and Mature Islet Cells. *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, s. 17130-17140.
15. **Kataoka, K., Han, S. I., Shioda, S. et al.:** MafA is a glucose-regulated and pancreatic  $\beta$ -cell-specific transcriptional activator for the insulin gene. *J. Biol. Chem.*, 2002, 277, s. 49903-49910.
16. **Artner, I., Le Lay, J., Hang, Y. et al.:** MafB: an activator of the glucagon gene expressed in developing islet alpha- and beta-cells. *Diabetes*, 2006, 55, s. 297-304.
17. **Cauchi, S., Meyre, D., Dina, C. et al.:** Transcription factor TCF7L2 genetic study in the French population: expression in human beta-cells and adipose tissue and strong association with type 2 diabetes. *Diabetes*, 2006, 55, s. 2903-2908.
18. **Šamalíková, P., Včelák, J., Bendlová, B.:** MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young) – nové poznatky o kandidátních genech. *DMEV*, 2002, 5, s. 11–18.
19. **Love-Gregory, L. D., Wasson, J., Ma, J. et al.:** A common polymorphism in the upstream promoter region of the hepatocyte nuclear factor-4 $\alpha$  gene on chromosome 20q is associated with type 2 diabetes and appears to contribute to the evidence for linkage in an Ashkenazi Jewish population. *Diabetes*, 2004, 53, s. 1134–1140.
20. **Silander, K., Mohlke, K. L., Scott, L. et al.:** Genetic variation near the hepatocyte nuclear factor-4 $\alpha$  gene predicts susceptibility to type 2 diabetes. *Diabetes*, 2004, 53, s. 1141–1149.
21. **Weedon, M. N., Owen, K. R., Shields, B. et al.:** Common variants of the hepatocyte nuclear factor-4 P2 promoter are associated with type 2 diabetes in the U.K. population. *Diabetes*, 2004, 53, s. 3002–3006.
22. **Wanic, K., Malecki, M. T., Wolkow, P. P. et al.:** Polymorphisms in the gene encoding hepatocyte nuclear factor-4alpha and susceptibility to type 2 diabetes in a Polish population. *Diabetes Metab.*, 2006, 32, s. 86-88.
23. **Vaxillaire, M., Dina, C., Lobbens, S. et al.:** Effect of common polymorphisms in the HNF4alpha promoter on susceptibility to type 2 diabetes in the French Caucasian population. *Diabetologia*, 2005, 48, s. 440-444.
24. **Ek, J., Rose, C. S., Jensen, D. P. et al.:** The functional Thr130Ile and Val255Met polymorphisms of the hepatocyte nuclear factor-4alpha (HNF4A): gene associations with type 2 diabetes or altered beta-cell function among Danes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2005, 90, s. 3054-3059.
25. **Chiu, K. C., Chuang, L. M., Chu, A., Wang, M.:** Transcription factor 1 and beta-cell function in glucose-tolerant subjects. *Diabet. Med.*, 2003, 20, s. 225-230.
26. **Holmkvist, J., Cervin, C., Lyssenko, V. et al.:** Common variants in HNF-1 alpha and risk of type 2 diabetes. *Diabetologia*, 2006, 49, s. 2882-2891.
27. **Macfarlane, W. M., Frayling, T. M., Ellard, S. et al.:** Missense mutations in the insulin promoter factor-1 gene predispose to type 2 diabetes. *J. Clin. Invest.*, 1999, 104, s. 33-39.
28. **Hani, E. H., Stoffers, D. A., Chevre, J. C. et al.:** Defective mutations in the insulin promoter factor-1 (IPF-1) gene in late-onset type 2 diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.*, 1999, 104, s. 41-48.
29. **Weng, J., Macfarlane, W. M., Lehto, M. et al.:** Functional consequences of mutations in the MODY4 gene (IPF1) and coexistence with MODY3 mutations. *Diabetologia*, 2001, 44, s. 249-258.
30. **Malecki, M. T., Jhala, U. S., Antonellis, A. et al.:** Mutations in NEUROD1 are associated with the development of type 2 diabetes mellitus. *Nat. Genet.*, 1999, 23, s. 323-328.
31. **Malecki, M. T., Klupa, T., Moczulski, D. K., Rogus, J. J.:** The Ala45Thr polymorphism of BETA2/NeuroD1 gene and susceptibility to type 1 diabetes mellitus in caucasians. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 2003, 111, s. 251-254.

32. **Gragnoli, C., Milord, E., Cox, N.:** Worldwide metanalysis of NEUROG3 variants in type 2 diabetes. *Obesity and Metabolism*, 2006, 2, s. 68-71.
33. **Shimajiri, Y., Shimabukuro, M., Tomoyose, T. et al.:** PAX4 mutation (R121W) as a prodiabetic variant in Okinawans. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003, 302, s. 342-344.
34. **Včelák, J., Šamalíková, P., Selisko, T. et al.:** Teplotní gradientová gelová elektroforéza – rychlá metoda screeningu mutací HNF1-alfa genu. *Biochemický zjazd s mezinárodní účastí, Stará Lesná – 9. 2002.*
35. **Selisko, T., Schwarz, P. E. H., Včelák, J. et al.:** Mutations in HNF1-alpha as a risk factor for gestational diabetes. XXXVII. Annual Meeting of the EASD, Glasgow 8.-13. 9. 2001, *Diabetologia*, 2001, 44, s. 341.
36. **Schwarz, P., Včelák, J., Selisko, T. et al.:** Der Missense-Polymorphismus AV98 im HNF1-alpha Gen als prädiktiver Faktor für Gestationsdiabetes. 107. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Inneren Medizin (DGIM). Wiesbaden 21-25 April 2001.
37. **Selisko, T., Včelák, J., Bendlová, B. et al.:** Mutations and intronic variants in the HNF1beta gene in a group of German and Czech Caucasians with type 2 diabetes mellitus and progressive diabetic nephropathy. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 2002, 110, s. 145-147.
38. **Cínek, O., Drevínek, P., Šumník, Z. et al.:** NEUROD polymorphism Ala45Thr is associated with type 1 diabetes mellitus in Czech children. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2003, 60, s. 49-56.
39. **Bendlová, B., Včelák, J., Vaňková, M. et al.:** Association of neurogenin 3 polymorphisms with insulin secretion. 42 nd Annual Meeting EASD, Copenhagen, Malmo, 14.-17.9. 2006, *Diabetologia*, 2006, 49 (Suppl.1), s. 38.
40. **Heremans, Y., van De Castele, M., Veld, P. et al.:** Recapitulation of embryonic neuroendocrine differentiation in adult human pancreatic duct cells expressing neurogenin 3. *J. Cell. Biol.*, 2002, 159, s. 303-312.

*Studie jsou podporovány grantovými projekty IGA MZ ČR NR/7809-5, GA ČR 301/04/1085.*



## ISCHEMICKÁ CHOROBA SRDEČNÍ U DIABETIKŮ

*Epidemiologie, rizikové faktory, specifika diagnostických a terapeutických postupů*

*Vilém Danzig, Stanislav Šimek, Renata Šimková a kol.*

Publikace shrnuje základní poznatky o epidemiologii, diagnostice a terapii ischemické choroby srdeční (ICHS) ve všech jejích formách u pacientů s diabetem mellitem. Důraz je kladen na odlišnosti klinického obrazu nemoci v této populaci a z ní vyplývající specifické léčebné postupy.

Důvodem pro zařazení této publikace do edičního plánu byl vzrůstající počet pacientů s diabetem v naší populaci a tím vlastně pacientů, kterým je třeba věnovat stejné léčebné úsilí jako nemocným s již rozvinutou ICHS. Kniha uceleně pojednává o tématu, se kterým se denně setkávají v praxi nejen diabetologové a kardiologové, ale i internisté, praktičtí lékaři a celá široká lékařská veřejnost. Česká monografie s danou tematikou na našem knižním trhu doposud chyběla.

*Vydal Maxdorf v roc 2006, 288 str., edice Jessenius, ISBN: 80-7345-079-8, formát A5, váz., 288 str., cena 395 Kč.*

**Objednávku můžete poslat na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz**

## PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

## Genetické příčiny mitochondriálního diabetu

Vaňková M., Lukášová P., Zemanová A., Včelák J., Vejražková D., <sup>1</sup>Mazura I., Bendlová B.

Endokrinologický ústav, Praha

<sup>1</sup>Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Praha

## SOUHRN

Diabetes mellitus 2. typu je heterogenní onemocnění charakterizované porušenou glukózovou homeostázi. Častý familiární výskyt poukazuje na genetickou příčinu onemocnění, nicméně přesný mechanismus vzniku je dosud neznámý. Z mnoha studií je zřejmé, že přenos diabetes mellitus 2. typu v rodokmenech je častější po mateřské linii. Jedním z celé řady možných vysvětlení této skutečnosti je výhradně mateřský přenos mitochondrií. Tyto orgány jsou odpovědné za energetický metabolismus buňky. Při oxidačně-redukčních pochodech v dýchacím řetězci vyrábějí molekuly adenosintrifosfát. Obsahují vlastní genom, který kóduje podjednotky dýchacího řetězce a proteosyntetický aparát pro proteiny kódované tímto genomem. Patogenní mutace v mitochondriální DNA mohou ovlivňovat aktivitu dýchacího řetězce a různě se projevovat ve fenotypu. Mitochondriální diabetes často doprovází syndromy postihující nervovou a pohybovou soustavu a projevuje se neautoimunitním poškozením beta buněk pankreatu. Přestože mutace v mitochondriální DNA vedou k diabetes mellitus, jejich nízká frekvence v populacích nemůže vysvětlit častěji popisovaný maternální přenos diabetes mellitus 2. typu.

**Klíčová slova:** mitochondriální DNA, mitochondriální diabetes mellitus, diabetes mellitus 2. typu, transferová RNA.

## SUMMARY

Vaňková M., Lukášová P., Zemanová A. et al.: Genetic Background of Mitochondrial Diabetes

Diabetes mellitus type 2 represents a heterogenous disease characterized by impaired glucose homeostasis. The disorder clusters in families suggesting genetic disposition, however the mechanism underlying is unknown. Many studies show more frequent maternal transmission of diabetes in the families. One of huge range of explanation is exclusively maternal transmission of mitochondria. Mitochondria are power organelles which produce ATP molecules by oxidation-reduction reactions via the respiratory chain. They contain their own genome which codes subunits of the respiratory chain and proteosynthetic apparatus for proteins encoded by this genome. Pathogenic mutations of mitochondrial DNA can affect the activity of the respiratory chain and result in various phenotypes. Mitochondrial diabetes is commonly associated with neuromuscular disorders and often presents with nonautoimmune beta cell failure. Although mitochondrial mutations are associated with diabetes, their low frequency does not explain reported more frequent maternal transmission of diabetes mellitus type 2.

**Key words:** mitochondrial DNA, mitochondrial diabetes, diabetes mellitus type 2, transfer RNA. Va.

Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 235–239.

**K**aždá eukaryotická buňka má ve své výbavě oxidačně redukční komplex, pomocí kterého si vytváří energii potřebnou pro svoji existenci. Eukaryotické buňky získávají energii ve zvláštních orgánech, mitochondriích. Mitochondrie jsou unikátní především díky vlastnímu genomu, jehož struktura i funkce jsou odlišné od jaderného genomu. Mají také zcela jedinečnou genetiku, která je výsledkem cytoplazmatické lokalizace, vysokého počtu kopií a výhradního maternálního přenosu. Mitochondrie jsou dnes pokládány za potomky původně nezávislých prokaryotických buněk, které byly zabudovány do prvotních eukaryotických buněk asi před 1,5 miliardami let.

Poruchy mitochondriálního metabolismu způsobující onemocnění jsou známé a popsány více než 40 let. Mitochondrie byly dány do souvislosti s lidským onemocněním již v roce 1962 (1) u pacienta s hypermetabolizmem. Genetická podstata mitochondriálního onemocnění byla popsána o něco později, v roce 1988, kdy byla poprvé publikována příčinná mitochondriální mutace v genu pro podjednotku NADH-dehydrogenázy 4 (G11778A) (2). Dnes jsou známy již desítky bodových mutací a různých přestaveb v mitochondriální DNA (mtDNA), které se manifestují v širokém spektru klinických příznaků.

Mitochondriální mutace postihují především metabolicky

RNDr. Markéta Vaňková, Ph.D.  
116 94 Praha 1, Národní 8  
fax: +420 224 905 325, e-mail: mvankova@endo.cz

aktivní tkáň. U člověka přednostně postihují mozek, svaly, srdce, játra, ledviny a beta buňky pankreatu. Mezi specifické symptomy mitochondriálních chorob patří slepota, hluchota, pohybová onemocnění, demence, kardiovaskulární choroby, svalová slabost, renální dysfunkce a z endokrinních poruch diabetes mellitus.

Hlavním zdrojem fenotypové variability u mitochondriálních chorob je stupeň heteroplazmie (tj. přítomnost normální mtDNA a mutované mtDNA v jedné buňce či tkáni), ale svou úlohu hrají i další faktory, např. interakce mezi mitochondriálním a jaderným genomem nebo ekogenetické faktory vnějšího prostředí. Mitochondriální onemocnění tak mohou být i multifaktoriální.

Stupeň heteroplazmie je sice hlavním zdrojem variability u mitochondriálních chorob, nicméně existují i dokumentované případy patogenních homoplazmických mutací (tj., mutace se nachází ve všech buňkách či tkáních). Ostatně i první výše popsaná mitochondriální mutace v genu pro podjednotku NADH-dehydrogenázy 4 (G11778A), způsobující Leberovu hereditární optickou neuropatii (LHON – Leber's Hereditary Optic Neuropathy), je homoplazmická. Homoplazmická je i mutace v genu pro transferovou RNA (tRNA) pro izoleucin (T4291C), která byla publikována v souvislosti s maternálním přenosem metabolického syndromu v rozsáhlém rodokmenu (3). Otázkou zůstává mechanismus patologického působení homoplazmických mutací. Homoplazmické mutace se mohou projevovat jen u některých členů rodiny a mohou způsobovat různý stupeň postižení. Na jejich klinickou manifestaci má pravděpodobně vliv mitochondriální haplotyp (soubor všech mutací či polymorfizmů), vnější prostředí i jaderné genetické pozadí.

### DEFEKTY OXPHOS

V molekule mtDNA je kódováno 13 proteinů, podjednotek oxidativně fosforylačního systému (OXPHOS – oxidative phosphorylation system). Dalších 74 proteinů tvořících komplex OXPHOS je kódováno v jaderné DNA. Poruchy OXPHOS jsou způsobovány mutacemi v mitochondriálním i jaderném genomu. Komplex OXPHOS vyrábí většinu energie potřebné v buňkách a poškození jeho činnosti vede ke snížení její produkce a buněčné smrti. Mnoho mitochondriálních chorob je charakterizováno právě sníženou tvorbou energetické molekuly adenosintrifosfát (ATP). V mitochondriích se také spouští apoptóza a mutace v mtDNA mohou zvýšit její účinnost.

Abnormality v mtDNA, způsobené mutacemi v jaderných genech, ovlivňují mitochondriální transkripci, translaci nebo replikaci. Většinou se jedná o delece nebo deplece mtDNA. Nemalý vliv na mutagenezi mtDNA mají volné kyslíkové radikály, které jsou vedlejším produktem činnosti OXPHOS.

### MUTACE V tRNA GENECH

Patogenní mutace v mitochondriálních genech jsou většinou heteroplazmické. Překvapivě se přednostně vyskytují v genech, které kódují molekuly tRNA. Více než 150 mutací mitochondriálního genomu je dnes spojováno s lidskými onemocněními a dvě třetiny z nich se nalézají v genech pro

tRNA. Geny pro tRNA přitom představují pouhou jednu desetinu mitochondriálního genomu. Patogenní mutace byly objeveny ve všech tRNA genech.

Všechny mutace v tRNA ovlivňují výkonnost dýchacího řetězce a způsobují onemocnění více či méně ovlivňují energetický metabolismus buňky. Práh pro manifestaci mitochondriální mutace ve fenotypu je obvykle mezi 15–50 % normální funkční úrovně tRNA. Nad tímto prahem není patologie obvykle klinicky zřejmá a naopak pod prahem bývá stav letální (4).

### PŘESTAVBY mtDNA

Přestavby mitochondriální DNA mohou být dvojího typu: buď vrozené, nebo spontánní. Vrozené přestavby jsou především inserce. Jako první inzerční mutace spojené s mitochondriálním onemocněním byly popsány mutace u maternálně děděného diabetu s hluchotou (MIDD – maternally inherited diabetes and deafness) (5). Mezi spontánní přestavby patří delece, které vedou k mnoha symptomům. Delece bývají rozsáhlé, více než 9 kb, a u pacientů se nachází ve vysokém stupni heteroplazmie (více než 80 %). Deletovaná mtDNA je přepisována do RNA, ale již nemusí být překládána, protože delece často zasahují do genů pro tRNA, které jsou pro překlad nezbytné.

Ve většině případů jsou spontánní mutace přítomny v oocyty nebo v časných stádiích embryonálního vývoje. Zdá se, že neexistuje souvislost s velikostí delece nebo jejím umístěním a klinickým projevem onemocnění. Klinický projev spíše závisí na distribuci a stupni heteroplazmie v konkrétních tkáních.

### MUTACE V GENU PRO tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> (A3243G)

Mutace v genu pro tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> (A3243G) způsobuje většinu případů mitochondriálního diabetu. Poprvé byla mutace v genu pro tRNA popsána v roce 1990, a to právě v genu pro tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> v pozici A3243G v souvislosti se syndromem MELAS (Mitochondrial Myopathy, Encephalopathy, Lactic Acidosis with Stroke-like Episodes Syndrome) (6). Dnes je známo více než 20 mutací v genu pro tuto tRNA.

Patogeneze mitochondriálních onemocnění spojených s poruchou tRNA je buď výsledkem konkrétní mutace v genu pro tRNA, nebo akumulací defektů v utváření molekuly tRNA, které zahrnuje vyštípnutí na 3' a 5' konci z transkriptu (processing), dotvoření 3' konce CCA tripletem, a aminoacylaci. Mutace v tRNA genech jsou tolerovány pouze v případech, kdy efekt mutace nevede k takové strukturální změně, která by ohrozila funkci molekuly.

Jedním z nejpravděpodobnějších strukturálních efektů mutace v genu pro tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> (A3243) je vytvoření stabilního dimerického komplexu (7), který neumožňuje zaujmutí správné prostorové struktury molekuly tRNA, ve které jediné může molekula plnit svou funkci.

Publikované frekvence této mutace jsou rozdílné u různých populací. V japonské a nizozemské studii je v populaci diabetiků 2. typu uváděná prevalence této mutace okolo 1 % (8, 9). V australské studii byla zjištěna prevalence 0,5 % (10)



a v rozsáhlé britské studii prevalence jen 0,2 % v populaci diabetiků 2. typu (11). Na druhou stranu ve skandinávské populaci, ve studii u pacientů s časným nástupem diabetes mellitus a pozitivní rodinnou anamnézou byla zjištěna prevalence 2,6 % (12). V nám geograficky blízké polské populaci nebyl nalezen žádný pacient s diabetem 2. typu nesoucí tuto mutaci (13).

U českých diabetiků, představovaných souborem 366 pacientů s diagnózou diabetu 2. typu, a také u 151 žen s gestačním diabetem nebyla mutace v genu pro tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> (A3243G) nalezena u žádného pacienta (14).

Nápadný geografický vliv na výskyt mutace A3243G u diabetiků 2. typu by mohl vycházet z rozdílného genetického pozadí daného rozdílnou etnickou distribucí mitochondriálních haplotypů. Tato zajímavá hypotéza nebyla ovšem dosud potvrzena.

Variabilní fenotypické projevy mutace v genu pro tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> (A3243G) se nejčastěji připisují buď stupni heteroplazmie v různých tkáních, nebo vlivu zatím neznámých jaderných genů. Stupeň heteroplazmie v leukocytech periferní krve, tj. v nejčastějším zdroji genetického materiálu pro vyšetření, byl u potomků pacientů s mitochondriálním onemocněním vyšší ve srovnání s jejich rodiči. Tento fenomén byl vysvětlován přednostní replikací mutantní DNA oproti normální DNA (15), ale pravděpodobnější vysvětlení spočívá v přirozeném poklesu stupně heteroplazmie v leukocytech v procesu stárnutí (16).

Zájem o výzkum mitochondriálních mutací a polymorfizmů v souvislosti s diabetem 2. typu vychází ze zjištění, že diabetes mellitus se v rodinné anamnéze významně častěji nachází u matek než u otců (17). Ke stejnému závěru dospěla i naše studie, ve které v dotazníku vyplňovalo rodinnou anamnézu 366 diabetiků 2. typu. Diabetes mellitus pouze u matky vyplnilo 40,1 % pacientů, pouze u otce 20,4 % pacientů a u obou rodičů 10,6 % pacientů. Sourozence – diabetiky uvedlo 81,6 % pacientů. Maternální přenos diabetu 2. typu, resp. diabetes mellitus u matky, je signifikantně častější, než paternální přenos ( $\chi^2=14$ ,  $p=0,000$ ) (14).

### POLYMORFIZMUS T16189C

Kandidátním polymorfizmem pro výzkum diabetes mellitus a inzulínové rezistence se zdá být polymorfizmus v kontrolní oblasti mtDNA (T16189C). Kontrolní oblast sice nekóduje žádný genový produkt, má ale významnou úlohu v regulaci replikace, transkripce a translace mtDNA. Tranzice T → C vytváří polycytozinovou sekvenci (nepřerušenou sekvenci 10 cytozinů), která je náchylná k chybám při replikaci molekuly mtDNA. Polycytozinová sekvence vykazuje i délkovou variabilitu, která vzniká právě při chybné replikaci. Některé práce dávají variantu 16189C, vedoucí k různé délce polycytozinové sekvence, do souvislosti s predispozicí ke vzniku mutace v genu pro tRNA<sup>Leu</sup> (A3243G) (18). Varianta 16189C je popisována v souvislosti s vyšší lačnou inzulínemí u kavkazské populace (19), s nižší porodní hmotností (20), inzulínovou rezistencí (21) a diabetes mellitus 2. typu (22).

V naší populaci, představovanou 284 diabetiky 2. typu a 184 nediatetickými jedinci (92 s rodinnou anamnézou diabetu a 92 bez rodinné anamnézy diabetu), nebyla potvrzena

žádná významná asociace varianty C s parametry inzulínové rezistence, sekrece nebo s diagnózou diabetes mellitus 2. typu (14).

### ONEMOCNĚNÍ SOUVISEJÍCÍ S VĚKEM

Nárůst metabolických a degenerativních onemocnění souvisejících s věkem v současném vyspělém světě představuje doslova epidemii. Diabetes mellitus měl v roce 2000 celosvětovou incidenci 151 milionů případů, odhadovaná incidence v roce 2010 je již 221 milionů nových případů (23). Alzheimerova choroba dnes postihuje okolo 4,5 milionů Američanů, její předpokládaný nárůst do roku 2050 je odhadovaný na 11 až 16 milionů případů jen v USA (24). Parkinsonova choroba postihuje přibližně 1 milion osob v USA a každý rok je diagnostikováno dalších 60 tisíc nových pacientů (25). Se vzrůstajícím věkem vzrůstá také riziko celé řady nádorových onemocnění. Mnoho případů onemocnění souvisejících s věkem se často vyskytuje v rodinách, proto se dá předpokládat genetický původ těchto chorob a i mitochondriální poruchy budou hrát významnou roli.

### METABOLICKÉ PROJEVY POŠKOZENÝCH MITOCHONDRIÍ

Diabetici 2. typu mívají sníženou funkci mitochondrií a down-regulovanou expresi mitochondriálních genů i jaderně kódovaných mitochondriálních genů. Pozorování vychází ze změn v hladinách hlavních regulátorů mitochondriální biogeneze, PPAR $\gamma$  (peroxisome proliferator activated receptor gamma) a jeho koaktivátoru PGC 1 (26) a oxidace lipidů (27).

Zvýšenou glykémii po příjmu potravy kontrolují citlivé pankreatické beta buňky, které secernují inzulín a upravují glykémii do normy. Inzulínémie snižuje (down-regulace) mitochondriální energetickou produkci v srdeční a kosterní svalovině a stimuluje uložení energetických přebytků do tukových zásob. Pokud je nedostatek sacharidů, inzulínová sekrece klesá a pankreatické alfa buňky začínají uvolňovat glukagon. Nízká glykémie je signálem pro energii spotřebovávající tkáň ke zvýšení (up-regulaci) mitochondriálního OXPHOS. Mobilizuje také energii uchovávanou v tkáni k přesunu uložených triacylglycerolů do krve k zásobení zvýšených nároků OXPHOS. Nízká glykémie stimuluje glukoneogenezi v játrech k udržení normoglykémie, která je nezbytná pro metabolismus mozku.

Glukóza se dostává do beta buňky pankreatu přes GLUT2 transportéry, glukokináza ji fosforyluje na glukózo-6-fosfát a dále na pyruvát. Pyruvát je oxidován v mitochondriích při glykolýze za tvorby ATP. Zvýšená produkce ATP zvyšuje poměr ATP/ADP, který způsobí uzavření K<sub>ATP</sub> kanálů, a tím depolarizaci membrány beta buněk. Depolarizovaná membrána otevírá Ca<sup>2+</sup> kanály. Ca<sup>2+</sup> se dostávají do buňky a způsobují exocytózu sekrečních granulí s inzulínem.

Mutace v mitochondriálním genomu vedou ke snížení efektivity OXPHOS, a tím snižují kapacitu pro využití energie z oxidovaných živin, čímž redukuje produkci ATP. Základním mechanismem rozvoje diabetu u mitochondriál-

ních onemocnění je redukce inzulínové sekrece díky snížené dostupnosti ATP v beta buňkách pankreatu.

### ADAPTACE NA ŽIVOTNÍ PODMÍNKY

Naši dávní předkové se adaptovali na měnící se podmínky prostředí ve dvou úrovních, za prvé na krátkodobé změny v dostupnosti potravy a změny v klimatu v důsledku sezonního střídání ročních období a za druhé na dlouhodobé změny v důsledku typu přijímané potravy a průměrné roční teploty vycházející z geografické polohy.

Původní obyvatelstvo naší zeměpisné šířky se muselo přizpůsobit chladu a sezonní variabilitě v příjmu potravy. Krátkodobá adaptace na chlad je možná díky rozpráhujícím proteinům (UCP – uncoupling protein) v tukové i svalové tkáni, které umožňují uvolnit energii ve formě tepla. Dávní předkové akumulovali přebytečné živiny z období hojnosti v podobě zásobního tuku. Sezonní variabilita v příjmu potravy byla metabolicky vyřešena pomocí inzulínové signalizace, která řídí příjem a využití energie. Pankreatické alfa a beta buňky kontrolují koncentraci glukózy v krvi. V případě nadbytku živin hladina glukózy v krvi stoupá, vyplavuje se inzulín a mitochondriální OXPHOS včetně obrany proti oxidantům, je v energeticky spotřebovávajících tkání down-regulován a přebytek energie je uložen v tkáních uchovávajících energii ve formě tuku. Jakmile skončí období hojnosti a přísun živin se sníží, hladina krevní glukózy klesá, s ní klesá i sekrece inzulínu a stoupá sekrece glukagonu. Tyto hormonální změny up-regulují mitochondriální OXPHOS i s doprovodnou antioxidační obranou v tkáních spotřebovávajících energii. Mobilizuje se energie uložená v tukové tkáni pro využití jako zdroj energie v mitochondriích a tvorba glukózy v játrech pro udržení normoglykémie.

Takový energetický systém dobře funguje v prostředí, kde se střídají období hojnosti s obdobími nedostatku živin. V dnešní vyspělé společnosti, kde je neomezený přísun živin po celý rok, zůstává metabolismus nastavený na období hojnosti. OXPHOS včetně obrany proti oxidantům je permanentně down-regulován a životní styl většinou nedovoluje dostatečně využít přijímanou energii a její přebytek akumuluje v nadbytečné tukové tkáni. Výsledkem této situace je chronický nadbytek kyslíkových radikálů, který vede k poškození mitochondriální DNA. Zvýšení oxidativního stresu způsobuje v buňkách různých tkání apoptózu, která v důsledku poškozuje sítnici, endotel cévních buněk, periferní neurony a nefrony a způsobuje komplikace, které doprovázejí onemocnění související se stoupajícím věkem (28).

### ZÁVĚR

Častější výskyt diabetes mellitus u matek, popř. v rodině matky, obrátil pozornost k mitochondriální DNA. Nalezené příčinné mutace mtDNA vysvětlují část případů diabetes mellitus, ale vzhledem k velmi malé frekvenci v populaci nemožnou uspokojivě vysvětlit popisovaný významně častější maternální přenos diabetes mellitus. Budoucnost genetického výzkumu mitochondriální DNA se tak obrací k identifikaci jaderných genů řídících funkce mitochondrií a vzájemným interakcím jaderného a mitochondriálního genomu.

### Zkratky

ATP	– adenosintrifosfát
GLUT2	– glukózový transportér, izoforma 2
LHON	– Leber's Hereditary Optic Neuropathy
MELAS	– mitochondrial myopathy encephalopathy, lactic acidosis with stroke-like episodes syndrome
MIDD	– maternally inherited diabetes and deafness
mtDNA	– mitochondriální DNA
OXPHOS	– oxidačně fosforylační systém (oxidative phosphorylation system)
PGC 1	– peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator-1
PPAR $\gamma$	– peroxisome proliferator activated receptor $\gamma$ (peroxisome proliferator activated receptor $\gamma$ )
tRNA	– transferová RNA
UCP	– rozpráhující protein (uncoupling protein)

### LITERATURA

1. Luft, R., Kokos, D., Palmieri, G. et al.: A case of severe hypermetabolism of nonthyroid origin with a defect in the maintenance of mitochondrial respiratory control: a correlated clinical, biochemical, and morphological study. *J. Clin. Invest.*, 1962, 41, s. 1776-1804.
2. Wallace, D. C., Singh, G., Lott, M. T. et al.: Mitochondrial DNA mutation associated with Lebers hereditary optic neuropathy. *Science*, 1988, 242, s. 1427-1430.
3. Wilson, F. H., Hariri, A., Farhi, A. et al.: A cluster of metabolic defects caused by mutation in a mitochondrial tRNA. *Science*, 2004, 306, s. 1190-1194.
4. Levinger, L., Mörl, M., Florentz, C.: Mitochondrial tRNA 3' end metabolism and human disease. *Nucleic Acids Research*, 2004, 32, s. 5430-5441.
5. Ballinger, S. W., Shoffner, J. M., Gebhart, S. et al.: Mitochondrial diabetes revisited. *Nat. Genet.*, 1994, 7, s. 458-459.
6. Goto, Y., Nonaka, I., Horai, S.: A mutation in the tRNA(Leu)(UUR) gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalomyopathies. *Nature*, 1990, 348, s. 651-653.
7. Roy, M. D., Wittenhagen, L. M., Kelley, S. O.: Structural probing of a pathogenic tRNA dimer. *RNA*, 2005, 11, s. 254-260.
8. Odawara, M., Sasaki, K., Yamashita, K.: Prevalence and clinical characterization of Japanese diabetes mellitus with an A to G mutation at nucleotide 3243 of the mitochondrial tRNA (Leu(UUR)) gene. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1995, 80, s. 1290-1294.
9. Hart, L. M., Lemkes, H. H., Heine, R. J. et al.: Prevalence of maternally inherited diabetes and deafness in diabetic populations in The Netherlands. *Diabetologia*, 1994, 37, s. 1169-1170.
10. Holmes-Walker, D. J., Boyages, S. C.: Prevalence of maternally inherited diabetes and deafness in Australian diabetic subjects. *Diabetologia*, 1999, 42, s. 1028-1032.
11. Saker, P. J., Hattersley, A. T., Bartoš, B. et al.: UKPDS 21: low prevalence of the mitochondrial transfer RNA gene (tRNA(Leu(UUR))) mutation at position 3243bp in UK Caucasian type 2 diabetic patients. *Diabet. Med.*, 1997, 14, s. 42-45.
12. Lehto, M., Wipemo, C., Ivarsson, S. A. et al.: High frequency of mutations in MODY and mitochondrial genes in Scandinavian patients with familial early-onset diabetes. *Diabetologia*, 1999, 42, s. 1131-1137.

13. **Malecki, M., Klupa, T., Wanic, K. et al.:** Search for mitochondrial A3243G tRNA<sup>Leu</sup> mutation in Polish patients with type 2 diabetes mellitus. *Med. Sci. Monit.*, 2001, 7, s. 246-250.
14. **Vaňková, M.:** Variabilita lidské mitochondriální DNA v české populaci. Dizertační práce: Katedra antropologie a genetiky člověka, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, 2006.
15. **Hao, H., Bonilla, E., Manfredi, G. et al.:** Segregation patterns of a novel mutation in the mitochondrial tRNA glutamic acid gene associated with myopathy and diabetes mellitus. *Am. J. Hum. Genetics*, 1995, 56, s. 1017-1025.
16. **Hart, L. M., Jansen, J., Lemkes, H. P. J. et al.:** Heteroplasmy Levels of a Mitochondrial Gene Mutation Associated With Diabetes Mellitus Decrease in Leucocyte DNA Upon Aging. *Hum Mutation*, 1996, 7, s. 193-197.
17. **Alcolado, J. C., Alcolado, R.:** Importance of maternal history of non-insulin dependent diabetic patients. *Br. Med. J.*, 1991, 302, s. 1178-1180.
18. **Marchington, D. R., Poulton, J., Sellar, A. et al.:** Do sequence variants in the major non-coding region of the mitochondrial genome influence mitochondrial mutations associated with disease? *Human. Mol. Genetics*, 1996, 5, s. 473-479.
19. **Lee, H. K., Song, J. H., Shin, C. S. et al.:** Decreased mitochondrial DNA content in peripheral blood precedes the development of non-insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 1998, 43, s. 161-167.
20. **Casteels, K., Ong, K., Philips, D. et al.:** Mitochondrial 16189 variant, thinner at birth, and type 2 diabetes. ALSPAC study team. *Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood. Lancet*, 1999, 353, s. 1499-1500.
21. **Poulton, J., Scott Brown, M., Cooper, A. et al.:** A common mitochondrial DNA variant is associated with insulin resistance in adult life. *Diabetologia*, 1998, 41, s. 54-58.
22. **Poulton, J., Luan, J., Macaulay, V. et al.:** Type 2 diabetes is associated with a common mitochondrial variant: evidence from a population-based case-control study. *Hum. Mol. Genet.*, 2002, 11, s. 1581-1583.
23. **Hogan, P., Dall, T., Nikolov, P.:** Economic costs of diabetes in the US in 2002. *Diabetes Care*, 2003, 26, s. 917-932.
24. **Hebert, L. E., Scherr, P. A., Bienias, J. L. et al.:** Alzheimer disease in the US population: prevalence estimates using the 2000 census. *Arch. Neurol.*, 2003, 60, s. 1119-1122.
25. **Natl. Parkinson Found. About Parkinson Disease.** <http://www.parkinson.org>, 2004.
26. **Mootha, V. K., Lindgren, C. M., Ericsson, K. F. et al.:** PGC-alpha-responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately down-regulated in human diabetes. *Nat. Genet.*, 2003, 34, s. 267-273.
27. **Lee, C. H., Olson, P., Evans, R. M. et al.:** Minireview: lipid metabolism, metabolic diseases, and peroxisome proliferator-activated receptors. *Endocrinology*, 2003, 144, s. 2201-2207.
28. **Wallace, D. C.:** A Mitochondrial Paradigm of Metabolic and Degenerative Diseases, Aging, and Cancer: A Dawn for Evolutionary Medicine. *Annu Rev. Genet.*, 2005, 39, s. 359-407.

*Podpořeno granty IGA MZ ČR NR/7809-5 a MŠMT ČR LN00B107.*

## Prosím, věnujte pozornost tomuto sdělení!

Po dohodě redakce ČASOPISU LÉKAŘŮ ČESKÝCH s Nakladatelským a tiskovým střediskem ČLS JEP počínaje číslem 1/2005 zpoplatňujeme publikaci článku s dedikací grantového či jinak finančně podporovaného výzkumu a vývoje z veřejných zdrojů. Cena jedné černobílé tiskové strany v časopisu je 1800 Kč včetně DPH, přičemž potřebnou částku lze čerpat z prostředků na tento výzkum.

Důvodem k zavedení poplatku je mj. skutečnost, že ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH v posledních dvou letech zveřejňuje téměř 53 % prací z oblasti výzkumu podporovaných z veřejných zdrojů.

Přes finanční podporu, které se prezidiálnímu časopisu dostává cestou vedení ČLS JEP, je ekonomická situace časopisu obtížná a limitující. Uvedené opatření považujeme za legitimní a doufáme, že se setká s pochopením autorů prací.

S oznámením o doručení rukopisu Vám redakce zašle formulář objednávky k publikaci vaší práce. Po navrácení vyplněné objednávky Nakladatelskému a tiskovému středisku ČLS JEP bude vaše práce neprodleně předána k recenzi. Částka bude zálohově fakturována ve fázi korektury a daňový doklad vám bude zaslán po zveřejnění článku.

Věnujte, prosím, zvýšenou pozornost aktualizovaným pokynům pro autory. Bližší informace vám poskytne Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, tel./fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz

*doc. MUDr. Petr Bartůněk, CSc.  
vedoucí redaktor*

## PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

# Vznik obezity na základě mutací genů ovlivňující energetickou bilanci

Hainerová I.

Klinika dětí a dorostu 3. LF UK a FNKV, Praha

## SOUHRN

Pandemie obezity v posledním desetiletí vedla k nárůstu studií zabývajících se problematikou obezity. Intenzivní výzkum obezity přinesl objevy několika genů, jejichž mutace vedou ke vzniku těžké obezity bez významného přispění dalších faktorů. Obezita zapříčiněná mutací jednoho genu se označuje jako monogenní typ obezity. Geny, jejichž mutace vedou k časně obezitě, jsou součástí komplexního systému regulujícího energetickou bilanci a jedinci ve většině případů nevykazují kromě těžké obezity vzniklé v raném dětství další charakteristické znaky. Mutace genu pro leptin, leptinový receptor, proopiomelanokortin, prohormon konvertázu 1, melanokortinový receptor 3. a 4. typu narušují přirozenou humorální signalizaci mezi periferními signály a hypothalamickými centry sytosti a hladu. Defekty ve všech uvedených genech jsou spojeny s fenotypem poruchy jídelního chování ve smyslu přejídání a následným rozvojem těžké obezity v časném dětství. Mutace genu pro melanokortinový receptor 4. typu představují nejčastější příčinu monogenní obezity, neboť prevalence výskytu u časně vzniklých obezit činí v některých populacích až 6 %. Výskyt ostatních monogenně podmíněných mutací je sporadický. Přestože tyto mutace jsou velmi vzácné, lze předpokládat, že další výzkum monogenních forem obezity nám dále objasní doposud neznámé regulační cesty a molekulární komponenty ovlivňující energetickou homeostázi a snad i přispěje k vývoji terapeutických prostředků, jež by byly přínosem pro léčbu běžných forem obezity.

**Klíčová slova:** obezita, gen, leptin, leptinový receptor, proopiomelanokortin, prohormon konvertáza 1, melanokortinový receptor 3. typu, melanokortinový receptor 4. typu.

## SUMMARY

*Hainerová I.: Obesity Based on Mutation of Genes Involved in Energy Balance*

Within the last decade an intensive research led to an identification of several genes which are involved in a regulation of energy balance. In most cases, carriers of these gene mutations do not exhibit further characteristic phenotypic features except for a severe obesity. Obesity based on mutation of one gene product is called monogenic obesity. Mutations in genes for leptin, leptin receptor, proopiomelanocortin, prohormone convertase 1, melanocortin 4 and 3 receptor disrupt the physiological humoral signalization between peripheral signals and the hypothalamic centres of satiety and hunger. Defects of all above mentioned genes lead to phenotype of abnormal eating behaviour followed by a development of severe early-onset obesity. Mutations of melanocortin 4 receptor gene represent the most common cause of monogenic obesity because they are detected in almost 6 % children with early-onset severe obesity. Mutations of the other genes involved in energy homeostasis are very rare. Although these mutations are sporadic we assume that further research of monogenic forms of obesity might lead to our understanding of physiology and pathophysiology of regulation of the energy homeostasis and eating behaviour. Additionally, they may open new approach to the management of eating behaviour and to the treatment of obesity.

**Key words:** obesity, gene, leptin, leptin receptor, proopiomelanocortin, prohormone convertase 1, melanocortin 3 receptor, melanocortin 4 receptor. *Ha.*

*Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 240–245.*

Obezita je multifaktoriálně podmíněná metabolická porucha, která vzniká v důsledku interakce genetických predispozic s faktory zevního prostředí. Celosvětový nárůst prevalence obezity je dán jednak změnami dietních zvyklostí a jednak poklesem pohybové aktivity. Obezita v dětském věku předurčuje jedince k obezitě v dospělosti a v důsledku

toho stoupá riziko předčasné nemoci a úmrtnosti vlivem komplikací obezity.

Regulace tělesné hmotnosti je zajištěna fyziologickými procesy, jejichž mechanismy nejsou dosud zcela objasněny. Nicméně pandemie obezity vedla v posledních desetiletích k intenzivnímu výzkumu fyziologie a patofyziologie řízení

energetické bilance a jídelního chování. Identifikace nových regulačních cest a následně jedinců s genovými mutacemi podílejícími se na regulaci energetické bilance potvrzuje nezanedbatelný vliv genetických faktorů v rozvoji obezity.

V posledních dvaceti letech řada studií ukázala vliv genetických faktorů na vznik obezity. Ve **40–70 % jsou změny tělesné hmotnosti determinovány faktory genetickými**. Doposud bylo identifikováno více jak 600 genů, markerů a chromozomálních oblastí, které jsou spojeny s fenotypem obezity (1). Avšak pouze u 35 genů byla souvislost mezi genovou variantou a nárůstem tělesné hmotnosti potvrzena pěti a více studiemi. Genetické vlohy mohou obecně buď tendenci ke vzniku obezity posilovat (tzv. **obezigenní geny**), nebo naopak před ní chránit (tzv. **leptogenní geny**).

V obecné patofyziologii obezity se především uplatňuje **dědičnost polygenní**, u které se na vzniku obezity podílí několik genových variant v interakci s prostředím. Mezi geneticky determinované faktory ovlivňující rozvoj obezity patří například přirozená regulace energetického příjmu, preference potravin, regulace energetického výdeje a regulace úrovně utilizace živin. Ukazuje se, že někteří jedinci, kteří jsou nositeli určitých variant, jsou náchylní (*genetická predispozice*) ke vzniku obezity zejména v interakci s tzv. **obezigenním prostředím**, které v nárůstu obezity během posledních desetiletí hrálo klíčovou roli. Energetický příjem se zvýšil jak díky zvýšenému množství konzumované stravy při zvětšování porcí jídla, tak díky zvýšené energetické denzitě konzumované stravy. K pozitivní energetické bilanci přispělo i snížení pohybové aktivity, a to zejména spontánní pohybové aktivity. „Toxické“ (obezigenní) prostředí ovlivňuje expresi řady genů podílející se na pozitivní energetické bilanci.

Lidstvo není proti vzniku obezity chráněno, jelikož evolučně lidský genom spíše podporuje akumulaci tukové tkáně a brání jejímu odbourávání, a proto jsou signály nasycení slabší než signály hladu. Tato teorie se označuje jako „thrifty genotype hypothesis“ (teorie úsporného genotypu). V době hladomoru v průběhu dějin lidstva došlo k vyselektování populace s úspornými geny, neboť jedinci, kteří byli nositeli neúsporných genů, vymřeli (2). Lidský genom i přes změnu dostupnosti potravy není schopen se měnit a i v obezigenním prostředí má tendenci k zachování a hromadění energetických zásob. Změna prostředí a chování jedinců tudíž vysvětluje nárůst prevalence obezity v posledních letech. Nicméně zajímavostí je fakt, že nárůst tělesné hmotnosti není pozorován v populaci všeobecně, ale k ještě většímu nárůstu hmotnosti inklinují jedinci, kteří mají nadváhu či jsou již obézní. Toto pozorování potvrzuje existenci geneticky náchylných jedinců k obezitě, kteří na rozdíl od geneticky „nenáchylných“ jedinců ve stejném prostředí váhu zvyšují, a tak dochází zejména k nárůstu morbidních obezit v populaci. Řada studií identifikovala určité **geneticky predisponované skupiny ke vzniku obezity**, mezi které například patří Pima indiáni v Arizoně, obyvatelé ostrovů Pacifiku, Hispánci a Afroameričani v USA (3). Na druhé straně, Pima indiáni v Mexiku, kteří žijí v leptogenním (energeticky restriktivním) prostředí, nejsou obézní a nevykazují tak vysoký výskyt diabetes mellitus 2. typu jako Pima indiáni v Arizoně (4).

## OBEZITA NA PODKLADĚ GENETICKÝCH PORUCH

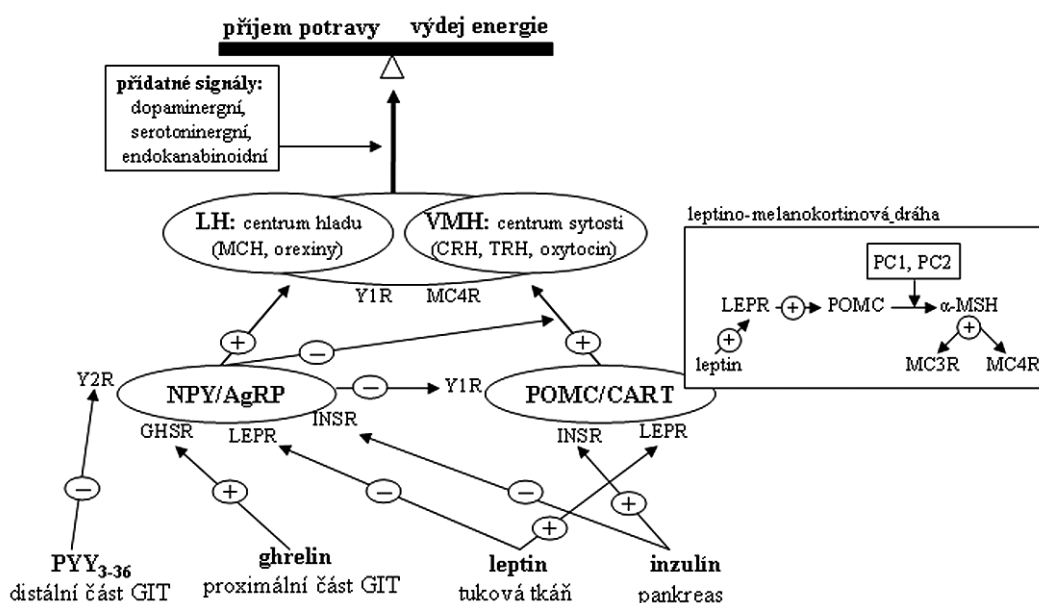
Onemocnění vznikající na podkladě genetických poruch se manifestují nezávisle na prostředí. Řadíme k nim jednak mendelovskými děděnými syndromy, kde obezita je jedním fenotypickým projevem komplexního onemocnění, a jednak mutace genů ovlivňující energetickou bilanci, kde obezita je hlavním manifestním znakem. Doposud bylo identifikováno více jak **20 genetických syndromů s mendelovskou dědičností** (syndromy Bardeta-Biedla, Pradera-Williho (PWS), Cohena a další). V klinickém obrazu těchto syndromů se **kromě obezity často vyskytuje mentální retardace, dysmorfie a orgánově specifické vývojové vady**. Dědičnost těchto syndromů je jak autozomální, tak vázaná na X-chromozóm. U většiny z nich byly identifikovány geny a chromozomální oblasti zapříčínující vznik syndromu, avšak doposud se nepodařilo najít spojitost mezi molekulární poruchou a fenotypickým projevem. Ve většině případů produkt mutovaného genu je intracelulární protein exprimovaný v celém těle, jehož funkce dosud není jasná. K objasnění patofyziologie genových produktů je nezbytné řádně charakterizovat nositele mutace, a tím objasnit vznik onemocnění.

V průběhu posledních deseti let se však podařilo odhalit několik genů, jejichž mutace mají potenciál vyvolat těžkou obezitu bez významného přispění dalších genů či faktorů zevního prostředí. Tak byly objeveny případy **monogenní obezity** způsobené například mutacemi genů kódujících hormony, resp. neuropeptidy a jejich receptory, které jsou přímo zapojeny do systému regulace příjmu potravy a jídelního chování na úrovni centrálního nervového systému (CNS). Z výzkumného hlediska jsou tyto případy při současné úrovni biomedicínského poznání mnohem snadněji detekovatelné, i když tvoří pouze malou část všech případů obezity. Jejich identifikace značně přispívá k objevení nových dosud neznámých patofyziologických procesů v regulaci energetické bilance. Vyznačují se svým časným vznikem a obvykle i vyšším stupněm závažnosti. Než si uvedeme některé případy, které se řadí mezi monogenní formy obezity, je nutné si objasnit řízení energetické bilance na úrovni CNS.

### PRINCIPY ŘÍZENÍ ENERGETICKÉ HOMEOSTÁZY NA ÚROVNI CENTRÁLNÍHO NERVOVÉHO SYSTÉMU (obr. 1) (5, 6)

Energetické zásoby jsou za fyziologických podmínek udržovány relativně konstantně. Energetickou homeostázu zajišťuje komplexní interakce periferních signálů s CNS. Příjem potravy je řízen **centrem sytosti a hladu** ve ventromediálním (VMH) a laterálním hypothalamu (LH). Tato centra neuronů přijímají **humorální signály z tukové tkáně** (leptin) a z **gastrointestinálního traktu** (cholecystokinin, ghrelin, obestatin, peptid YY<sub>3-36</sub>, inzulin, oxyntomodulin, glucagon-like peptide 1), **metabolické signály** (glykémie, hladiny aminokyselin a ketolátek) a **aferentní neurogenní signály** z gastrointestinálního traktu (např. distenze žaludku zprostředkovaná signály bloudivého nervu).

V CNS v oblasti nucleus arcuatus (ARC) existují dva typy neuronů – orexigenní a anorexigenní. **Orexigenní**



**Obr. 1.** Řízení energetické bilance – interakce periferie s centrálním nervovým systémem (upraveno dle 5, 6)  
Neurony NPY/AgRP (orexigenní) a POMC/CART (anorexigenní) v ARC hypothalamu hrají klíčovou roli v regulaci energetické bilance. Aktivaci orexigenních neuronů dochází ke stimulaci jedení, naopak aktivaci anorexigenních neuronů dochází k potlačení příjmu potravy. Tyto dva typy neuronů přijímají mnoho signálů z periferie. Leptin a inzulin svým působením v CNS aktivují anorexigenní neurony a inhibují neurony orexigenní. Orexigenní neurony jsou aktivovány ghrelinem a naopak inhibovány PYY<sub>3-36</sub>. Orexigenní neurony potlačují funkci neuronů anorexigenních přes Y1R. Signály obou typů neuronů aktivací či inhibicí receptorů (MC4R, Y1R) ovlivňují neurony v hypothalamu, kde sídlí centra sytosti (VMH) a centra hladu (LH). Tyto neurony společně s přidatnými signály (dopaminergní, serotonergní, endokanabinoidní atd.) regulují příjem potravy a výdej energie.

AgRP – agouti-related peptid, ARC – nucleus arcuatus, CART – cocaine-amphetamine related transcript, CRH – hormon uvolňující kortikotropin, GHSR – growth hormone secretagogue receptor, GIT – gastrointestinální trakt, INSR – receptor inzulinu, LEPR – leptinový receptor, LH – laterální hypothalamus, MCH – melanin koncentrující hormon, MC3R – melanokortinový receptor 3. typu, MC4R – melanokortinový receptor 4. typu, NPY – neuropeptid Y, PC1 – prohormon konvertáza 1, PC2 – prohormon konvertáza 2, MSH – melanocyty stimulující hormon, POMC – proopiomelanokortin, PYY<sub>3-36</sub> – peptid YY<sub>3-36</sub>, TRH – thyrotropin uvolňující hormon, VMH – ventromediální hypothalamus, Y1R – receptor Y1, Y2R – receptor Y2

neurony zprostředkují signalizaci pomocí neuropeptidu Y (NPY) a agouti-related peptidu (AgRP) a jejich aktivaci dochází ke zvýšení energetického příjmu a snížení energetického výdeje. **Anorexigenní signalizace** je zprostředkována prostřednictvím proopiomelanokortinu (POMC) a cocaine-amphetamine related transcriptu (CART) a jejich aktivaci dochází k jevu opačnému. Oba typy neuronů zajišťují informaci o stavu tělesných zásob neuronům v oblasti hypothalamu, které též dostávají informace prostřednictvím dopaminergních, serotonergních a endokanabinoidních signálů. Tyto neurony exprimují Y1 receptory (Y1R) a melanokortinové receptory 4. typu (MC4R). Orexigenní neurony předávají svoji informaci do LH (centrum hladu) a aktivací orexigenních působků (melanin koncentrující hormon – MCH, orexiny A, B) dochází ke stimulaci jedení. Naopak anorexigenní neurony informují oblast VMH (centrum sytosti), a tím dochází k aktivaci anorexigenních působků (thyrotropin uvolňující hormon – TRH, hormon uvolňující kortikotropin – CRH, oxytocin). Výsledkem této aktivace je navození pocitu sytosti a zvýšení energetického výdeje. Energetický výdej je ovlivněn nejen TRH, ale POMC neurony zasahují i do oblasti sympatického nervového systému, který aktivuje beta-adrenergické receptory. Vzhledem k převaze popsanych mutací ve dráze zprostředkované leptinem, zaměříme se na tuto regulační dráhu podrobněji.

### LEPTINO-MELANOKORTINOVÁ DRÁHA REGULACE ENERGETICKÉ BILANCE (obr. 1) (7–9)

**Leptin** je zejména produkován adipocyty a přináší signály o dlouhodobém stavu výživy do CNS prostřednictvím vazby na leptinové receptory (LEPR) přítomné v ARC v hypothalamu. Po navázání **leptinu na receptor** dochází následně ke stimulaci osy anorexigenních neuropeptidů a k inhibici osy orexigenních neuropeptidů (viz výše). Stimulovaný polypeptid **POMC** se za přispění enzymů prohormon konvertázy 1 a 2 (**PC1, PC2**) štěpí na několik funkčních peptidů – tři formy hormonu stimulujícího melanocyty (alfa-MSH, beta-MSH a gama-MSH), adrenokortikotropní hormon (ACTH), beta- a gama-lipotropin a beta-endorfin. **Alfa-MSH** svojí vazbou na melanokortinový receptor 3. typu (**MC3R**) a **MC4R** aktivuje anorexigenní působky, a tím dochází ke snížení příjmu potravy a ke zvýšení energetického výdeje. Současně leptin inhibuje neurony s orexigenním působením (NPY, AgRP, MCH, orexiny), a tím potlačuje jejich vliv na zvýšený příjem potravy a snížený energetický výdej. Konečným důsledkem působení leptinu v CNS je **snížení příjmu potravy a zvýšení energetického výdeje**.

Důležitost jednotlivých genů orexigenní či anorexigenní osy byla demonstrována nejen experimenty na myších modelech, ale i u obézních jedinců. V souvislosti s časně nastupu-

jící monogenně podmíněnou obezitou byly popsány mutace genu leptinu (LEP), leptinového receptoru (LEPR), proopiomelanokortinu (POMC), prohormon konvertázy 1 (PC1), melanokortinového receptoru 3. typu (MC3R) a melanokortinového receptoru 4. typu (MC4R).

Je zřejmé, že **hypothalamický melanokortinový systém** představuje jeden z nejkompexnějších systémů v endokrinologii člověka, jelikož se podílí nejen na regulaci energetického příjmu a energetického výdeje, ale ovlivňuje i pigmentaci (alfa-MSH) a funkci některých endokrinních žláz.

### MONOGENNÍ FORMY OBEZITY – MUTACE GENŮ OVLIVŇUJÍCÍ ENERGETICKOU BILANCI

Jak již bylo řečeno, monogenní obezity vznikají mutací jednoho genu. Mutace genů kódující proteiny, které se uplatňují v regulaci energetické bilance, vedou ke vzniku onemocnění s mendelovskou dědičností a jejich dominujícím znakem je obezita. Díky pozičnímu klonování na myších modelech (ob/ob, db/db, fa/fa, agouti) bylo objasněno několik případů monogenních forem obezity. Genová manipulace na zvířecích modelech napomohla objasnit klíčovou roli MC4R v regulaci energetické bilance. Následně byli identifikováni jedinci se vzácnými monogenními formami lidské obezity s recesivní dědičností – LEP, LEPR, PC1, POMC. Výsledkem mutací těchto genů je **obvykle těžká obezita vznikající v útlém věku**. Dnes je známo 10 genů, u nichž je **mutace jednoho genu příčinou vzniku monogenní formy obezity**.

**Mutace LEP, LEPR a POMC** jsou výjimečně svojí úplnou penetrancí a autozomálně recesivní dědičností. Tyto mutace se vyznačují těžkou obezitou vzniklou v prvních měsících života a hyperfagií. Jedinci s mutacemi LEP či LEPR mají hypogonadotropní hypogonadismus. Popsané případy nositelů LEP mutace měly velmi nízké hladiny sérového leptinu a hyperinzulinémií (10). Nedostatečná sekrece růstového hormonu a naopak velmi vysoké hladiny leptinu byly pozorovány u nositelů LEPR mutace (11). Mutace LEP genu jsou dosud jediné, u kterých je možné terapeuticky zasáhnout. Klíčová role leptinu v regulaci energetické bilance byla potvrzena výrazným efektem při substituci leptinu u případů kongenitálního deficitu leptinu. Každodenní subkutánní podávání rekombinantního leptinu bylo provázeno snížením hmotnosti na úroveň normostenika, vymizením hyperfagie, vzestupem gonadotropních hormonů a navozením puberty (12). Jedinci s kompletním deficitem POMC jsou velmi vzácní a jsou charakterističtí ACTH deficitem projevujícím se hypokortikalizmem v novorozeneckém věku, dále rusými vlasy a bledou pleť, což je dáno nedostatkem alfa-MSH (13).

**Mutace PC1** u dvou popsáných případů byla spojena s těžkou časně nastupující obezitou, a to i přes malabsorpci, hypogonadotropní hypogonadizmem, postprandiální hypoglykémii a hypokortizolemii (14). Jelikož PC1 je enzym zodpovědný za proteolytické štěpení řady prohormonů (proinzulin) a pro-neuropeptidů (POMC), jsou pro nositele charakteristické vysoké hladiny proinzulinu a velmi nízké hladiny inzulínu charakteristické. Důvod popisované malabsorpce je spatřován v porušené proteolytické aktivitě tohoto enzymu, což potvrdily nálezy vysokých hladin progastrinu a proglukagonu.

V ojedinělých případech byly popsány **mutace genu pro MC3R**, genu pro **receptory kortikoliberinu (CRHR1 a CRHR2)**, genu pro **receptor melanin koncentrujícího hormonu (MCHR1)** a genu pro **transkripční faktor SIM1 (Single Minded Homologue 1)**. Mutace SIM1 byla popsána u dívky s časně vzniklou těžkou obezitou a hyperfagií. Zjistilo se, že dívka je nositelka balancované translokace mezi 1p22.1 a 6q16.2. Tato oblast je místem SIM1 genu kódujícího transkripční faktor důležitý v neurogenезi (zejména v paraventriculární oblasti hypothalamu), avšak jeho role v patogenezi obezity zatím není zcela objasněna. Klinický obraz je přirovnáván k obrazu u PWS (15). Mutace genu NTRK2, který kóduje **receptor pro brain-derived neurotrophic factor (BDNF)**, se projevuje vedle časně vzniklé obezity, hyperfagií, mentální retardací, poruchou krátkodobé paměti, opožděním vývoje řeči, stereotypním chováním a poruchou nocicepce (16).

Zatímco nepatrná část všech morbidních obezit vzniklých v časném věku lze vysvětlit výše uvedenými mutacemi, **mutace MC4R představují nejčastější monogenní příčinu obezity**, což jasně dokládá počet studií a objevených mutací a polymorfizmů (17). MC4R je receptor exprimovaný v hypothalamu, který se podílí na udržení energetické homeostázy v rámci anorexigenní osy (18). Prevalence těchto mutací se pohybuje od 0,5 do 6 %. Mutace MC4R se ve většině případů dědí autozomálně dominantně s různým stupněm penetrance a exprese. Řada studií se snaží fenotypicky charakterizovat nositele mutace (19), avšak výsledkem je fakt, že nositele nelze často odlišit od obézních nenositelů těchto mutací. Pouze obezita homozygotních nositelů MC4R mutace je charakteristická svým velmi časným nástupem (první měsíce života), těžkým stupněm obezity a hyperfagií (20, 21). Studie provedená na vzorku téměř 300 českých dětech s časně vzniklou obezitou odhalila **2,4 % prevalenci mutací MC4R**. V této studii byl identifikován jeden homozygotní nositel (Gly181Asp), který se vyznačoval vznikem těžké obezity již v prvních měsících života. Naproti tomu heterozygotní nositelé se nijak nelišili od obézních nenositelů MC4R mutace (21). Zajímavé bylo, že při šestitýdenní redukční intervenci úbytek tělesné hmotnosti nositelů MC4R mutace byl srovnatelný s úbytkem tělesné hmotnosti obézních nenositelů mutací tohoto genu (21). Již pokusy na myších modelech ukázaly, že pokud se myši s nefunkčním MC4R ponechají na stravě s nízkým obsahem tuku, pak nevykazují hyperfagii na rozdíl od myši krmených potravou s vysokým zastoupením tuků. Zde je doložena interakce genu a prostředí a nezastupitelná role složení stravy při redukční intervenci, a to i u geneticky predisponovaných jedinců (22).

Přestože tyto mutace jsou velmi vzácné, lze předpokládat, že další výzkum monogenních forem obezity nám dále objasní doposud neznámé regulační cesty a molekulární komponenty ovlivňující energetickou homeostázu a snad i přispěje k vývoji terapeutických prostředků, jež by byly přínosem pro léčbu běžných forem obezity.

### ZÁVĚR

Pandemie obezity vedla k nárůstu studií zabývajících se problematikou obezity, a proto poslední desetiletí přineslo nové zásadní poznatky o patogenezi obezity. Studie myších

modelů velmi přispívají k identifikaci kandidátních genů obezity a mnoho studií u lidí vychází z jejich objevů. Geny, jejichž mutace vedou k časně obezitě, jsou součástí komplexního systému regulující energetickou bilanci a jedinci ve většině případů nevykazují kromě časně těžké obezity další charakteristické znaky. Laboratorní vyšetření nám mohou napomoci pouze u několika monogenně podmíněných obezit, avšak konečnou diagnózu je nutné potvrdit genetickou analýzou. Mutace MC4R genu představují nejčastější příčinu monogenní obezity, neboť prevalence výskytu u časně vzniklých obezit činí v některých populacích až 6 %. Výskyt ostatních monogenně podmíněných mutací je sporadický. Přestože tyto mutace jsou velmi vzácné, lze předpokládat, že další výzkum monogenních forem obezity nám dále objasní doposud neznámé regulační cesty a molekulární komponenty ovlivňující energetickou homeostázu a snad i přispěje k vývoji terapeutických prostředků, jež by byly přínosem pro léčbu běžných forem obezity.

#### Zkratky

ACTH	– adrenokortikotropní hormon
AgRP	– agouti-related peptide
alfa-MSH	– alfa-melanocyty stimulující hormon
ARC	– nucleus arcuatus
beta-MSH	– beta-melanocyty stimulující hormon
CART	– cocaine-amphetamine related transcript
CNS	– centrální nervový systém
CRH	– hormon uvolňující kortikotropin
BDNF	– brain-derived neurotrophic factor
CRHR1	– receptor kortikoliberinu 1
CRHR2	– receptor kortikoliberinu 2
gama-MSH	– gama-melanocyty stimulující hormon
GHSR	– growth hormone secretagogue receptor
GIT	– gastrointestinální trakt
INSR	– inzulínový receptor
LEP	– leptin
LEPR	– leptinový receptor
LH	– laterální hypothalamus
MC3R	– melanokortinový receptor 3.typu
MC4R	– melanokortinový receptor 4.typu
MCH	– melanin koncentrující hormon
MCHR1	– receptor melanin koncentrujícího hormonu 1
NPY	– neuropeptid Y
PC1	– prohormon konvertáza 1
PC2	– prohormon konvertáza 2
POMC	– proopiomelanokortin
PYY <sub>3-36</sub>	– peptid YY <sub>3-36</sub>
PWS	– syndrom Pradera-Williho
SIM1	– Single Minded Homologue 1
TRH	– thyrotropin uvolňující hormon
VMH	– ventromediální hypothalamus
Y1R	– Y1 receptor
Y2R	– Y2 receptor

#### LITERATURA

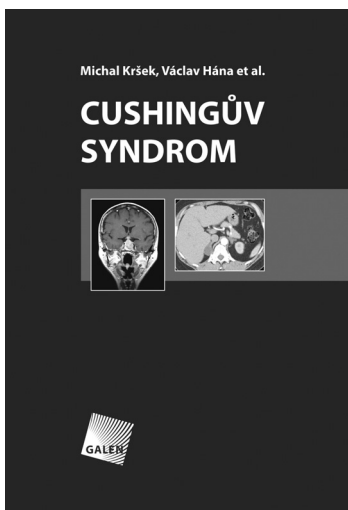
1. Rankinen, T., Zuberi, A., Chagnon, Y. C. et al.: The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity*, 2006, 14, s. 529-644.
2. Neel, J. V.: The „thrifty genotype“ in 1998. *Nutr. Rev.*, 1999, 57, 5, s. 2-9.
3. Cossrow, N., Falkner, B.: Race/ethnic issues in obesity and obesity-related comorbidities. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2004, 89, s. 2590-2594.
4. Ravussin, E., Valencia, M. E., Esparza, J. et al.: Effects of a traditional lifestyle on obesity in Pima Indians. *Diabetes Care*, 1994, 17, s. 1067-1074.
5. Bell, C. G., Walley, A. J., Froguel, P.: The genetics of human obesity. *Nat. Rev. Genet.*, 2005, 6, s. 221-234.
6. Gale, S. M., Castracane, V. D., Mantzoros, C. S.: Energy homeostasis, obesity and eating disorders: recent advances in endocrinology. *J. Nutr.*, 2004, 134, s. 295-298.
7. Castro, M. G., Morisson, E.: Post-translational processing of proopiomelanocortin in the pituitary and in the brain. *Crit. Rev. Neurobiol.*, 1997, 11, s. 35-57.
8. Schwartz, M. W., Seeley, R. J., Woods, S. C. et al.: Leptin increases hypothalamic pro-opiomelanocortin mRNA expression in the rostral arcuate nucleus. *Diabetes*, 1997, 42, s. 2119-2123.
9. Zhang, Z. H., Felder, R. B.: Melanocortin receptors mediate the excitatory effects of blood-borne murine leptin on hypothalamic paraventricular neurons in rat. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2004, 286, s. 303-310.
10. Montague, C. T., Farooqi, I. S., Whitehead, J. P. et al.: Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature*, 1997, 397, s. 903-908.
11. Clément, K., Vaisse, C., Lahlou, N. et al.: A Mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature*, 1998, 392, s. 398-401.
12. Farooqi, I. S., Jebb, S. A., Langmack, G. et al.: Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *N. Engl. J. Med.*, 1999, 341, s. 879-884.
13. Krude, H., Biebermann, H., Luck, W. et al.: Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nat. Genet.*, 1998, 19, s. 155-157.
14. Jackson, R. S., Creemers, J. W. M., Ohagi, S. et al.: Obesity and impaired prohormone processing associated with mutations in the human prohormone convertase 1 gene. *Nat. Genet.* 1997, 16, s. 303-306.
15. Holder, J. L. Jr., Butte, N. F., Zinn, A. R.: Profound obesity associated with a balanced translocation that disrupts the SIM1 gene. *Hum. Mol. Genet.* 2000, 9, s. 101-108.
16. Yeo, G. S., Connie Hung, C. C., Rochford, J. et al.: A de novo mutation affecting human TRKB associated with severe obesity and development delay. *Nat. Neurosci.*, 2004, 7, s. 1187-1189.
17. Mackenzie, R. G.: Obesity-associated mutations in the human melanocortin-4 receptor gene. *Peptides*, 2006, 27, s. 395-403.
18. Mountjoy, K. G., Mortrud, M. T., Low, M. J. et al.: Localisation of the melanocortin-4 receptor (MC4-R) in neuroendocrine and autonomic control circuits in the brain. *Mol. Endocrinol.*, 1994, 8, s. 1298-1308.
19. Farooqi, I. S., Keogh, J. M., Yeo, G. S. et al.: Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor. *N. Eng. J. Med.* 2003, 348, s. 1085-1095.
20. Lubrano-Berthelie, C., Le Stunff, C., Bougneres, P., Vaisse, C.: A homozygous null mutation delineates the role of the melanocortin-4 receptor in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004, 89, s. 2028-2032.



21. **Hainerová, I., Lebl, J., Hainer, V. et al.:** Mutation in melanocortin 4 receptor (MC4R) in Czech obese children: prevalence, phenotype and weight reduction of the carriers. *Obes. Rev.*, 2006, 7 (Suppl. 2), s. 163.
22. **Butler, A. A., Cone, R. D.:** Knockout studies defining different roles for melanocortin receptors in energy homeostasis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2003, 994, s. 240-245.

*Za cenné připomínky a vedení děkuji svému školiteli prof. MUDr. J. Leblovi, CSc. a za konzultace pracovníkům Endokrinologického ústavu v Praze.*

*Studie byla podporována výzkumným projektem MSM No. 0021620814.*



## CUSHINGŮV SYNDROM

*Michal Kršek, Václav Hána et al.*

Cushingův syndrom je onemocnění známé již více než 70 let. Má velmi různorodou etiologii a pestrý a variabilní klinický obraz. Kvůli těmto vlastnostem, charakteru sekrece kortisolu a aktivity celé regulační osy hypotalamus–hypofýza–kůra nadledvin a zároveň nedostatečné senzitivě a specifitě laboratorních testů, které jsou k dispozici, jde o jedno z nejkomplikovanějších onemocnění v klinické endokrinologii. Každý pacient s Cushingovým syndromem je pro endokrinologa vždy novou výzvou a často přináší různá překvapení, úskalí a nečekané komplikace na cestě od správné diagnózy k definitivní terapii. Z uvedených důvodů patří péče o pacienty s Cushingovým syndromem na specializovaná pracoviště, mající odpovídající personální a laboratorní vybavení a spolupracující

s dalšími odborníky a pracovišti.

Tato monografie shrnuje současný stav poznání problematiky a využívá zkušenosti endokrinologů ze III. interní kliniky 1. LF UK v Praze, kterou prošly řádově stovky pacientů s Cushingovým syndromem a která má v České republice s uvedenou problematikou největší zkušenosti. To však neznamená, že je kniha určena pouze úzkému okruhu endokrinologů, protože s diagnostikou a diferenciální diagnostikou Cushingova syndromu se setkává řada dalších lékařů, zejména internistů, obezitologů, diabetologů, ale i dalších odborností.

*Vydal Galén v roce 2006, ISBN 80-7262-399-0, formát 155 x 225 mm, váz., barevná příl., 144 str., cena 390 Kč.*

**Objednávku můžete poslat na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz**

## PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

# Osteoporóza a ateroskleróza – je mezi nimi patogenetická souvislost?

Žofková I.

Endokrinologický ústav, Praha

## SOUHRN

Základním cytokinem regulujícím remodelaci kosti je ligand pro receptorový aktivátor nukleárního faktoru kappaB (RANKL). Protiregulačním faktorem je rozpustný receptor osteoprotegerin. Zatímco RANKL aktivuje osteoklastickou resorpci kosti, osteoprotegerin (OPG) stimuluje její novotvorbu. Systém RANKL/OPG (TRANCE osa) je aktivován ve prospěch RANKL při hypoestrinismu, zánětu, léčbě glukokortikoidy a u kostních malignit. TRANCE osa je funkční i v dalších tkáních včetně cévní stěny, kde nerovnováha s převažující aktivitou RANKL urychluje aterogenezi. Molekuly blokující RANKL (specifické protilátky a OPG) jsou potencionálními léky osteoporózy, aterosklerózy, zánětlivých onemocnění, myelomu a osteolytických metastáz. Přehledný článek je zaměřen na úlohu TRANCE osy v patogenetice osteoporózy a aterosklerózy a její využití v diagnostice a léčbě obou degenerativních onemocnění.

**Klíčová slova:** RANKL, osteoprotegerin, osteoporóza, ateroskleróza.

## SUMMARY

*Žofková I.: Osteoporosis and Atherosclerosis – is there Any Pathogenetic Association?*

Fundamental cytokine regulating remodeling of the skeleton is receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL). RANKL is counter regulated by soluble receptor osteoprotegerin (OPG). While RANKL activates osteoclastic bone resorption, the OPG stimulates bone formation. RANKL/OPG system (TRANCE axis) is activated in favour of RANKL in estrogen deficiency, inflammation, bone malignancies and during the treatment with glucocorticoids. TRANCE axis is functional also in other tissues including vessel wall, where dysbalance with superiority of RANKL leads to atherogenesis. Molecules blocking RANKL (specific antibodies and OPG) are potential drugs for treatment of osteoporosis, atherosclerosis, inflammation diseases, myeloma or osteolytic bone metastases. This review is focused on pathogenetic role of TRANCE axis in the development of osteoporosis and atherosclerosis and on its use in diagnosis and treatment of both degenerative diseases.

**Key words:** RANKL, osteoprotegerin, osteoporosis, atherosclerosis.

Žo.

Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 246–250.

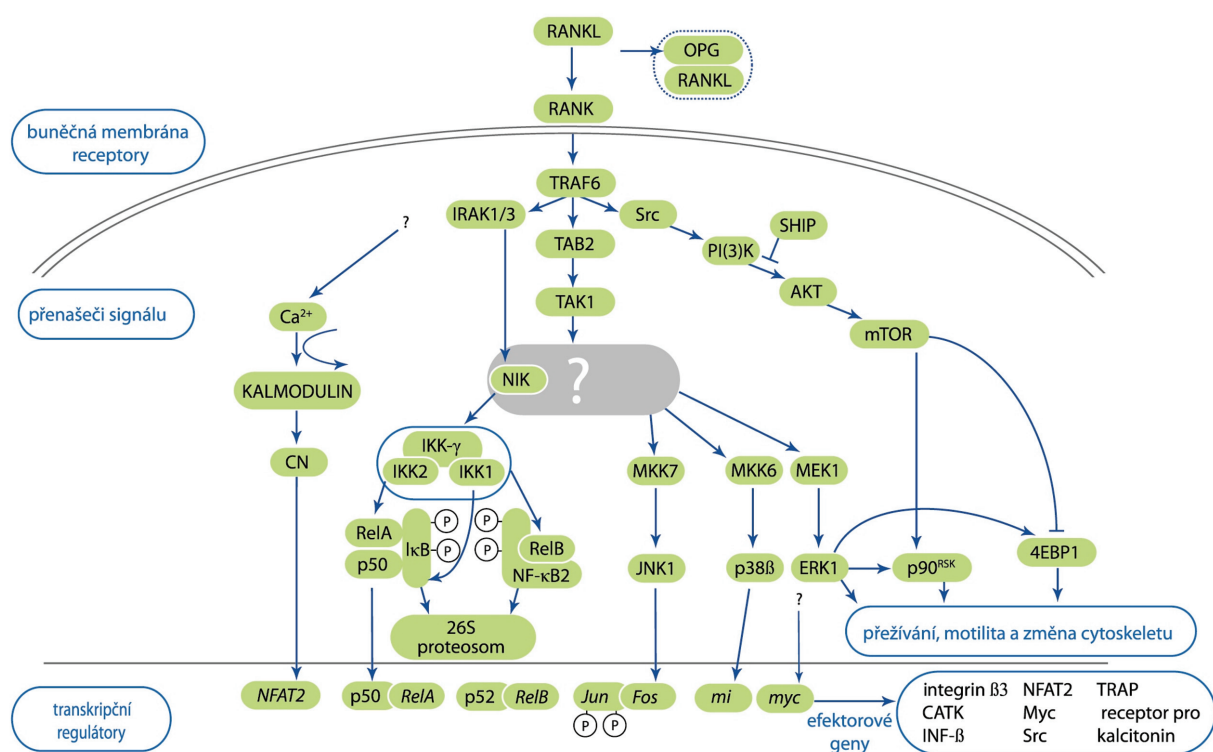
**Z**tráta kostní hmoty i sklerotizace cévní stěny jsou závažnými projevy stárnutí. Osteoporóza i ateroskleróza mají vysokou prevalenci, morbiditu a mortalitu. Řada epidemiologických pozorování svědčí o nápadně časté koincidenci obou onemocnění. Je známo, že výraznější úbytek kostní hmoty po menopauze je významným rizikovým faktorem zvyšujícím mortalitu žen, což je v souladu s průkazem inverzních závislostí mezi kostní densitou a zúžením karotid, kalcifikací aorty a koronárních tepen a ztluštěním jejich intimy a medie (1). Tato fakta budí domněnku, že obě onemocnění spolu patogeneticky přímo souvisí.

Osteoporóza i kardiovaskulární choroby jsou determinovány geneticky a celou řadou společných hormonálních faktorů (hladiny sexagenů a aktivních metabolitů vitamínu D a funkce jejich receptorů). Nesporný je i vliv výživy na kost i kardiovaskulární systém. V kostní matrix i ve stěně cévní jsou aktivovány společné homeostatické mechanismy, přede-

vším RANKL (ligand pro receptorový aktivátor nukleárního faktoru  $\kappa$ B), jeho receptor RANK a osteoprotegerin (OPG) (TRANCE osa z angl. tumor necrosis factor-related activation-induced cytokine). Patologická exprese některého z článků TRANCE osy může vést současně k osteolýze i ke kardiovaskulárnímu postižení.

## PATOFYZIOLOGICKÝ VÝZNAM SYSTÉMU RANKL-RANK-OPG V KOSTI

RANKL je polypeptidický cytokin o 316 aminokyselinách produkovaný celou řadou systémů včetně osteoblastů. Váže se na transmembránový receptorový protein RANK (616 aminokyselin), exprimovaný hemopoietickými prekurzorovými buňkami monocytární/makrofágové linie a osteoklasty. Během aktivace osteoklastu je signál z cytoplazmatické membrány

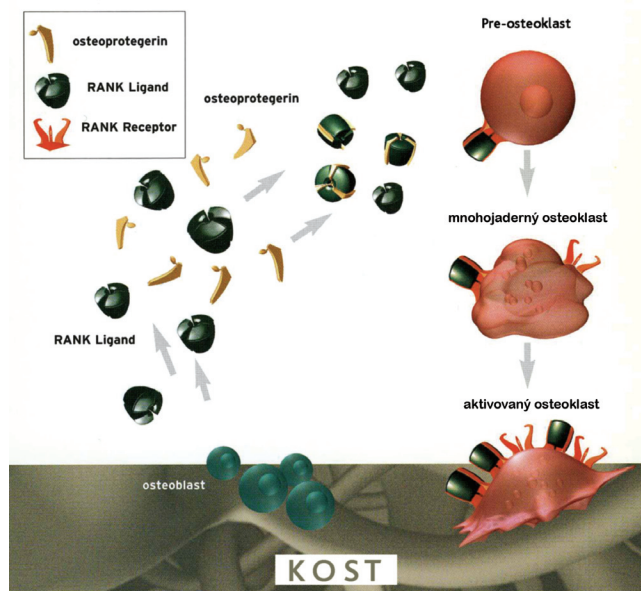


**Obr. 1.** Signalizační síť RANK v osteoklastu

Kaskáda proteinových přenašečů signálu směrem od membránových receptorů k jaderným efektorům stimuluje vývoj a aktivaci osteoklastu. RANKL je v interakci s RANK nebo s OPG (volně dle 31).

přenášen prostřednictvím kaskády transkripčních faktorů k jádru, kde indukuje expresi specifických efektorových genů regulujících diferenciaci, zrání a aktivaci osteoklastů. Složitost tohoto přenosu vystihuje obrázek 1. Bez účasti RANKL se osteoklasty nemohou tvořit, aktivovat ani přežít. Aktivita RANKL a kostní resorpce jsou pod kontrolou protiregulačního rozpustného receptoru OPG (peptid o 380 aminokyselinách), rovněž exprimovaného osteoblasty. OPG po vazbě na RANKL inhibuje tvorbu a aktivaci osteoklastů a stimuluje osteoblasty a zajišťuje tak fyziologickou rovnováhu mezi resorpcí a novotvorbu kosti a její plynulou remodelaci (obr. 2).

Produkce RANKL v kosti je stimulována  $1,25(\text{OH})_2$  vitamínem  $\text{D}_3$  a parathormonem a celou řadou interleukinů (IL-6, IL-11, IL-17, TNF- $\alpha$  glukokortikoidy a imunosupresivy, prostaglandinem E2 (PGE2) a kalciumem a tlumena transforming growth factorem beta (TGF- $\beta$ ), kostním morfogenetickým faktorem 2 (BMF-2) a estrogenem. OPG je aktivován vitamínem D a interleukiny, estrogenem, BMF-2 a TGF- $\beta$ . Tlumen je parathormonem, glukokortikoidy, imunosupresivy a PGE2 (2, 3). V experimentu *in vivo* RANKL aktivaci osteolýzy indukuje hyperkalcémi a osteoporózu. Inaktivace peptidu naopak vede k osteopetróze. Myši s vyblokováným genem pro OPG mají vysokou remodelační aktivitu kosti a osteoporózu, již lze zabránit podáním OPG (3). Vychýlení rovnováhy TRANCE osy ve smyslu zvýšení poměru RANKL/OPG v důsledku hormonálních změn (hypoestrinismus, hyperparatyreóza), zánětu (revmatoidní artritida) nebo v průběhu stárnutí urychluje úbytek kostní hmoty. Extrémně vysoký poměr RANKL/RANK mají také kostní malignity, osteoporóza, Pagetova choroba a některá onemocnění periodontu.



**Obr. 2.** RANKL je exprimován mj. také osteoblasty. Aktivuje preosteoklasty na osteoklasty a stimuluje kostní resorpci. Fyziologicky je protiregulován osteoprotegerinem.

## FUNKCE TRANCE OSY V CEVNI STĚNĚ

Kalcifikace extracelulární matrix, jež je fyziologickým procesem v mineralizovaných tkáních (kost, zuby, růstové chrupavky), měkké tkáně poškozuje. Ukládání kalcia ve stěně cév je degenerativním projevem souvisejícím se stárnutím, aterosklerózou, cukrovkou a selháváním ledvin. Proces

je spuštěn aktivací zánětlivých cytokinů a akcelerován nerovnováhou kalcium/fosfátového indexu nebo mechanickým poškozením. Podobně jako v kosti je transport a ukládání kalcia ve stěně cévní pod kontrolou systému RANKL/RANK/OPG, jehož jednotlivé články jsou exprirovány cévními endoteliálními buňkami a **kalcifikovanou** hladkou cévní svalovinou. RANKL a OPG mimoto přímo nebo cestou imunomodulace regulují diferenciaci, přežívání a funkci buněk cévní stěny. Podobně jako v kosti je i v cévní stěně RANKL stimulován zánětlivými cytokiny (IL-1 a TNF- $\alpha$ ) (4), ale také angiotenzinem, fibroblastickým růstovým faktorem a destičkovým růstovým faktorem (5). Inhibován je TGF- $\beta$ , ligandy PPAR $\gamma$ - a imunosupresí (4). Také v cévě je klíčovou molekulou systému OPG, který i zde tlumí účinek RANKL.

Význam TRANCE osy pro vývoj aterosklerózy dokumentuje průkaz exprese OPG, RANK a RANKL v ischemických ložiscích krysího myokardu, v kardiomyocytech pacientů se selháním srdce (6) a v kalcifikované aortální chlopni (7). U postmenopauzálních žen vysoké hladiny OPG v séru pozitivně korelovaly s tloušťkou intimy a medie a. carotis (8). Zvýšené koncentrace OPG byly nalezeny také u neaterogenního postižení cév, například při chronickém selhávání ledvin, kde se předpokládá primární vliv hyperparatyreózy, hyperkalcémie, hyperfosfatémie a vysokých dávek metabolitů vitamínu D (9). Korelace sérových hladin OPG s osteogenní transformací cévní stěny a s funkcí endotelií byla prokázána u diabetické makroangiopatie i u diabetes mellitus 2. typu (10, 11). Zvýšená exprese OPG v kalcifikované cévní stěně je v těchto případech považována za projev autoregulační kompenzace vysoké aktivity osy RANKL-RANK (12).

Kromě OPG mají vaskuloprotektivní efekt i další osteogenní molekuly – GLA protein, SMAD-6 a klotho protein (tlumí produkci kysličníku dusnatého v cévní stěně) (3).

### OSTEOPORÓZA A ATEROSKLERÓZA – DVĚ STRANY JEDNÉ MINCE?

Kalcifikovaná cévní stěna se svým lamelárním charakterem, přítomností trabekul a lakun a buněk podobných osteoblastům a osteoklastům nápadně podobá kosti. Matrix cévní stěny je podobně jako osifikující matrix kosti nahrazována osteoidem, vaskularizována a remodelována ve zralou mineralizovanou tkáň (13). Jak bylo zmíněno, RANKL produkováný v aterogenní lézi buňkami podobnými osteoblastům stimuluje tvorbu a aktivaci buněk osteoklastogenních. Zatímco v kosti RANKL stimuluje osteolýzu, v cévní stěně naopak indukuje zánět (migrace monocytů a makrofágů, uvolnění cytokinů a aktivace T-buněk) s následnou kalcifikací. OPG, který tyto účinky v obou systémech ruší je na jedné straně faktorem osteoformačním a na druhé straně faktorem vaskuloprotektivním. Hladiny OPG v séru zdravých jedinců fyziologicky klesají s věkem a po menopauze (estrogen zvyšuje expresi OPG) (14). Vysoké hladiny OPG ve věku nad 50 let bývají patologickým projevem hyperaktivní TRANCE osy skeletu i kalcifikované cévní stěny. Polymorfismus T950C v genu pro OPG koreloval s hladinami OPG a stejnou měrou se ztluštěním intimy a. carotis. Lze proto sérové koncentrace peptidu a variace v OPG genu považovat za ukazatele rizika úbytku kostní hmoty a časně fáze aterosklerózy (15–16).

RANKL/OPG není jediným systémem spojujícím kostní metabolismus s cévou. Z tkáně aterogenezi poškozené cévní stěny byly izolovány i další typicky osteogenní peptidy – kostní kolagen typu I, osteonektin, osteopontin a Gla protein (osteokalcin) a proteoglykany, z nichž posledně jmenované byly detekovány i ve stěně cévy zdravé. Bylo také prokázáno, že myši, u nichž byl vyblokován gen pro Gla protein, měly spolu s nízkou kostní denzitou i generalizovanou kalcifikaci arteriálních stěn a vysokou mortalitu (17, 18).

Kost a cévní stěna mají společné i hormonální mechanismy regulující jejich funkci, z nichž nejvýznamnějším je estrogen. Estrogenní receptory jsou přítomny v osteoblastech, osteoklastech i v endoteliích cév a jejich efekt v obou systémech je zprostředkován cytokiny. Deficit estrogenů zvyšuje produkci IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  v kosti i cévní stěně. Tyto cytokiny aktivují osteoklasty a zrychlují resorpci kosti a současně indukují zánět a kalcifikaci cévní stěny (19, 20).

Dalšími klíčovými hormony zasahujícími do homeostázy obou systémů jsou parathormon a vitamin D. Prvý v nadbytku zrychluje úbytek kortikální kosti i vývoj aterosklerózy. Příkladem negativního vlivu hyperparatyreózy na kost a cévní stěnu je konečné stadium selhání ledvin. Vitamin D má naopak v obou cílových tkáních účinek protektivní. Receptory vitamínu D byly prokázány nejen v kosti, ale i v endoteliích aorty a v hladké cévní svalovině, kde modulují buněčnou diferenciaci. Byl nalezen vztah genu pro receptor 1,25(OH) $_2$  vitamínu D (polymorfismus BsmI) ke kostní denzitě a současně k aterogenezi (21). Významným angioprotektivním mechanismem 1,25(OH) $_2$  vitamínu D je útlum aktivity systému renin-angiotenzin. Substituce vitamínem D má význam v prevenci osteoporózy i arteriální hypertenze (20).

Společnými styčnými body patogeneze osteoporózy a aterosklerózy jsou také některé metabolické faktory. Cirkulující oxidované nízkodenzitní lipoproteiny (LDL) tlumí diferenciaci kostních osteoblastů i osteoblastům podobných buněk arteriální stěny. Proto zvýšené hladiny LDL tlumí kostní novotvorbu a současně indukují sklerotizaci cév (22). Také vysoká hladina sérového homocysteinu na podkladě genetické zátěže, hypoestrinismu nebo v souvislosti s nutričním deficitem (kyselina listová a vitaminy B6 a B12) je rizikovým faktorem pro vznik osteoporózy a aterosklerózy (23). Dalším společným regulačním mechanismem je kysličník dusnatý, jenž má vaskuloprotektivní efekt a zdá se, že pozitivně ovlivňuje i funkci osteoblastů a kostní remodelaci. Nedostatečnost lokální produkce kysličníku dusnatého v těchto tkáních může vést k osteoporóze i ateroskleróze. Kost a kardiovaskulární systém patogeneticky spojuje i parametr oběhový. Hypoperfuze kosti v důsledku aterosklerotického postižení může rozvoj osteoporózy urychlit.

### VÝZNAM TRANCE OSY PRO DIAGNOSTIKU A LÉČBU OSTEOPORÓZY A KARDIOVASKULÁRNÍCH CHOROB

Metody měření hladin RANKL a OPG nabízejí možnost využití těchto parametrů v diagnostice. Zatímco vysoké hladiny RANKL v časně fázi menopauzy jsou spolehlivým ukazatelem rizika traumatických fraktur, výpovědní hodnota sérových hladin OPG u osteoporózy není jednoznačná.

U postmenopauzálních žen byl prokázán negativní i pozitivní vztah mezi hladinami OPG a kostní densitou, což je vysvětlováno osteoprotektivním efektem OPG na jedné straně a kompenzačním vzestupem jeho produkce při zrychleném úbytku kostní hmoty na straně druhé. Limitujícím faktorem měření hladin OPG v séru je i skutečnost, že RANKL i OPG produkuje řada dalších tkání a nejsou proto pro kost ani cévu specifické. Mimoto aktivita systému kolísá s věkem a do značné míry závisí na funkci ledvin. Jednoznačnou výpovědní hodnotu však má nízká koncentrace OPG v séru u glukokortikoidy indukované osteoporózy (24). Nízké hodnoty OPG bývají měřeny také u myelomu, naopak extrémně vysoké mohou signalizovat přítomnost kostních metastáz (karcinom prostaty).

Funkci TRANCE osy moduluje řada molekul, které jsou příslibem moderní léčby osteoporózy i aterosklerózy. Vysokou aktivitu RANKL v poměru k OPG lze korigovat přímo aplikací syntetického OPG, estrogenem nebo mechanickou zátěží. Léčebný efekt selektivního modulatora estrogenních receptorů raloxifenu u osteoporózy je dobře znám. Diskutuje se i o možném využití jeho antisklerotického účinku (25). Produkci OPG stimulují bisfosfonáty, které tlumí aktivovanou kostní resorpci, ale snižují i hladiny plazmatických lipidů a tlumí aterosklerotický proces. Původní indikace bisfosfonátů v léčbě osteoporózy se možná v budoucnu rozšíří o indikaci kardiovaskulární (26). Další zajímavou molekulou z hlediska farmakoterapie osteoporózy i aterosklerózy je statin, který inhibuje syntézu cholesterolu a LDL cholesterolu a současně zmnožuje a aktivuje osteoblasty, zvyšuje expresi OPG a novotvorbu kosti. Pozitivní vliv dlouhodobé léčby statiny na kostní densitu byl potvrzen klinickou studií (27). Význam fyzické aktivity v prevenci osteoporózy i kardiovaskulárních chorob je dobře znám.

Na tomto místě nelze nezmínit využití modulatorů TRANCE osy v léčbě onemocnění dalších systémů. V řadě případů chronických zánětlivých procesů nebo kostních malignit (především myelomu) lze progresi choroby zabránit bloádou RANKL pomocí specifických protilátek nebo aplikací OPG. S úspěchem je zkoušen fúzní OPG protein (OPG-Fc protein), jehož pozitivní vliv při léčbě osteoporózy, artritidy, myelomu, kostních metastáz a maligní hyperkalcémie byl prokázán v experimentu na zvířeti a lze očekávat i pozitivní vliv peptidu na kardiovaskulární systém (14).

Osa RANKL-RANK-OPG je tedy společným tkáňovým modulatorem homeostázy skeletu i cévní stěny a má spolu se zánětem klíčový význam v patogenezi aterosklerózy i osteoporózy. Molekuly ovlivňující funkci této osy jsou slibnou perspektivou moderní diagnostiky, prevence i léčby obou závažných chorob. Lze předpokládat jejich využití i v diagnostice a léčbě onemocnění dalších systémů produkujících RANKL a OPG včetně metastázujících karcinomů a poruch imunity (28–30).

#### Zkratky

BMF-2	– kostní morfogenetický faktor 2
LDL	– nízkodenzitní lipoproteiny
OPG	– osteoprotegerin
PGE2	– prostaglandin E2
RANKL	– ligand pro receptorový aktivátor nukleárního faktorou κB
TGF-β	– transforming growth factorem beta

TRANCE – tumor necrosis factor-related activation-induced cytokine

#### LITERATURA

1. **Farhat, G. N., Strotmeyer, E. S., Newman, A. B. et al.:** Volumetric and areal bone mineral density measures are associated with cardiovascular disease in older men and women: the health, aging, and body composition study. *Calcif. Tissue Int.*, 2006, 79, s. 102-111.
2. **Onyia, J., Miles, R., Yang, X. et al.:** *In vivo* demonstration that human parathyroid hormone 1-38 inhibits the expression of osteoprotegerin in bone with the kinetics of an immediate early gene. *J. Bone Miner. Res.*, 2000, 15, s. 863-871.
3. **Collin-Ozdoby, P.:** Regulation of vascular calcification by osteoclast regulatory factors RANKL and osteoprotegerin. *Circulation Res.*, 2004, 95, s. 1046-1069.
4. **Collin-Osdoby, P., Rothe, L., Anderson, F. et al.:** Receptor activator of NF-κB ligand and osteoprotegerin expression by human microvascular endothelial cells, regulation by inflammatory cytokines, and role in human osteocalcogenesis. *J. Biol. Chem.*, 2001, 276, s. 20659-20672.
5. **Zhang, J., Fu, M., Myles, D., et al.:** PDGF induces osteoprotegerin expression in vascular smooth muscle cells by multiple signal pathways. *FEBS Letts*, 2002, 521, s. 180-184.
6. **Uleand, T., Yndestad, A., Oie, E. et al.:** Dysregulated osteoprotegerin/RANK ligand/RANK axis in clinical and experimental heart failure. *Circulation*, 2005, 111, s. 2461-8.
7. **Kaden, J., Bickelhaupt, S., Grobholz, R. et al.:** Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulate aortic valve calcification. *J. Moll. Cell. Cardiol.*, 2004, 36, s. 57-66.
8. **Erdogan, B., Aslan, E., Bagis, T. et al.:** Intima-media thickness of the carotid arteries is related to serum osteoprotegerin levels in healthy postmenopausal women. *Neurol. Res.*, 2004, 26, s. 658-661.
9. **Moe, S. M.:** Vascular calcification and renal osteodystrophy relationship in chronic kidney disease. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2006, 36 (Suppl. 2), s. 51-62.
10. **Rasmussen, L. M., Ledet, T.:** Osteoprotegerin and diabetic macroangiopathy. *Horm. Metab. Res.*, 2005, 37 (Suppl. 1), s. 90-94.
11. **Xiang, G. D., Xu, L., Zhao, L. S. et al.:** The relationship between plasma osteoprotegerin and endothelium-dependent arterial dilation in type 2 diabetes. *Diabetes*, 2006, 55, s. 2126-2131.
12. **Wildner, M., Peters, A., Raghuvanshi, V. S. et al.:** Superiority of age and weight as variables in predicting osteoporosis in postmenopausal white women. *Osteoporosis Int.*, 2003, 14, s. 950-956.
13. **Fitzpatrick, L., Turner, R., Ritman, E.:** Enchondral bone formation in the heart: A possible mechanism of coronary calcification. *Endocrinol.*, 2003, 144, s. 2214-2219.
14. **Hofbauer, L. C., Schoppet, M.:** Clinical Implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular disease. *JAMA*, 2004, 292, s. 490-495.
15. **Soufi, M., Schoppet, M., Sattler, A. M. et al.:** Osteoprotegerin gene polymorphisms in men with coronary artery disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2004, 89, s. 3764-3768.
16. **Fintit, Y., Demer, L.:** Recent advances in multifactorial regulation of vascular calcification. *Curr. Opin. Lipidol.*, 2001, 12, s. 555-560.
17. **Dhore, C. R., Cleutjens, P. M., Lutgens, E. et al.:** Differential expression of bone matrix regulatory proteins in human

- atherosclerotic plaques. *Arterioscler. Tromb. Vasc. Biol.*, 2001, 21, s. 1998-2003.
18. **Luo, G., Ducy, P., McKee, M. D. et al.:** Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature*, 1997, 386, s. 78-81
  19. **Fontova, R., Gutierrez, G., Generell, J. et al.:** Bone mineral mass is associated with interleukin 1 receptor autoantigen and TNF- $\alpha$  gene polymorphisms in post-menopausal Mediterranean women. *J. Endocrinol. Invest.*, 2002, 25, s. 684-690.
  20. **Navroth, P., Pirzer, R., Fohr, B. et al.:** Osteoporosis and cardiovascular disease-two sites of the same coin? *Med. Klin. (Munich)*, 2003, 98, s. 437-46.
  21. **Kammerer, C. M., Dualan, A. A., Samollow, P. B. et al.:** Bone mineral density, carotid artery intimal medial thickness, and the vitamin D receptor BsmI polymorphism in Mexican American women. *Calcif. Tissue Int.*, 2004, 75, s. 292-298.
  22. **Parhami, F., Morrow, A., Balucan, J. et al.:** Lipoxidation products have opposite effects on calcifying vascular cells and bone cell differentiation. A possible explanation for the paradox of arterial calcification in osteoporotic patients. *Arterioscler. Tromb. Vasc. Biol.*, 1997, 17, s. 680-687.
  23. **van Meurs, J. B., Dhonukshe-Rutten, R. A., Pluij, S. M. et al.:** Homocysteine levels and the risk of osteoporotic fracture. *N. Engl. J. Med.*, 2004, 350, s. 2033-2041.
  24. **Sasaki, N., Kusano, E., Ando, Y. et al.:** Changes in osteoprotegerin and markers of bone metabolism during glucocorticoid treatment in patients with chronic glomerulonephritis. *Bone*, 2002, 30, s. 853-858.
  25. **Blumenthal, R. S., Baranowski, B., Dowsett, S. A.:** Cardiovascular effects of raloxifene: the arterial and venous systems. *Am. Heart. J.*, 2004, 147, s. 783-789.
  26. **Mc Farlane, S. L., Muniyappa, R., Shin, J. J. et al.:** Osteoporosis and cardiovascular disease – Brittle bones and boned arteries, is there a link? *Endocrine*, 2004, 23, s. 1-10.
  27. **Lunckman, S. P., Hughes, D. E., Coxon, F. P. et al.:** Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit mevalonate pathway and prevent post-translation prenylation of GTP-binding proteins, including Ras. *J. Bone Miner. Res.*, 2005, 20, s. 581-589.
  28. **Mikosch, P., Igerc, I., Kudlacek, S. et al.:** Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin in men with thyroid cancer. *Eur. J. Clin.*, 2006, 36, s. 566-573.
  29. **Guang-Da, X., Hui-Ling, S., Zhi-Song, C., Lin-Shuang, Z.:** Alteration of plasma concentration of OPG before and after levothyroxine replacement therapy in hypothyroid patients. *J. Endocrinol. Invest.*, 2005, 28, s. 965-972.
  30. **Walsh, M., Choi, Y.:** Biology of the TRANCE axis. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2003, 14, 251-263.
  31. **Boyle, W. J., Scott Simonet, W., Lacey, D. L.:** Osteoclast differentiation and activation. *Nature*, 2003, 423, s.337-342.

*Podpořeno grantem IGA MZ ČR NR/9055-4.*

### **Co v prevenci problémů působených alkoholem pomáhá a co ne**

České pivovary zorganizovaly tzv. „Iniciativu zodpovědných pivovarů“. Cílem je údajně omezit škody, které alkohol působí hlavně mezi řidiči a dospívajícími. Abychom tuto iniciativu zasadili do širšího kontextu, porovnejme ji s tím, co o prevenci škod působených alkoholem říká Světová banka (1).

Podle ní působí alkohol v celosvětovém měřítku téměř stejně případů předčasných úmrtí a invalidity jako tabák a přibližně 5x

více případů smrti a invalidity v porovnání s ilegálními drogami. Světová banka doporučuje mimo jiné testování řidičů na alkohol a okamžité sankce, jako například odebírání řidičských průkazů, potírání nelegálního obchodu s alkoholem, vyšší zdanění, a tím i cenu alkoholických nápojů a včas poskytnutou krátkou intervencí pro problémy působené alkoholem. Kampaně v médiích nejsou účinné, pokud se nepropojí s efektivními a prokazatelně účinnými intervencemi, jako jsou vyšší zdanění alkoholických nápojů, nižší dostupnost alkoholu, energické prosazování věkových omezení pro prodej alkoholu a protiošetření u opilých řidičů.

Nic nenasvědčuje tomu, že by pivovary podporovaly uvedená doporučení Světové banky. Jejich iniciativu je nutno chápat jako snahu zlepšit svůj pošramocený obraz na veřejnosti. Většina 100% alkoholu se v roce 2005 v České republice vypila právě v pivo.

#### **Literatura:**

1. Alcohol. Dokument Světové banky je dostupný na jejich webových stránkách na adrese:

*MUDr. Karel Nešpor, CSc.  
www.plbohnice.cz/nespor*

## PŮVODNÍ PRÁCE

## Syndrom polycystických ovarií a jeho mužský ekvivalent

Dušková M., Hill M., Stárka L.

Endokrinologický ústav, Praha

## ABSTRAKT

**Východisko.** Syndrom polycystických ovarií je multifaktoriální onemocnění, na jehož rozvoji se podílí jak genetické vlivy, tak vlivy zevního prostředí. Genetický podklad syndromu polycystických ovarií s autozomálním přenosem vedl k myšlence výskytu tohoto syndromu i u mužů, pochopitelně s jinou expresí příznaků. Předčasná androgenní alopecie byla uvažována jako jeden z možných příznaků mužského ekvivalentu syndromu polycystických ovarií.

**Metody a výsledky.** Byla sledována skupina 30 mužů s předčasným výpadem vlasů před 30. rokem, u nichž bylo vyšetřeno hormonální spektrum a proveden inzulínový toleranční test. Robustní Mannův–Whitneyův test a Fisherův test byly použity pro statistickou analýzu. Podle hormonálních hladin bylo možné vytvořit dvě skupiny. První měla obdobné hormonální změny jako ženy se syndromem polycystických ovarií, a to nízkou hladinu SHBG, vysoký index volného testosteronu a nižší folikulostimulační hormon (FSH). Druhá skupina byla bez hormonálních změn nebo bylo pouze nižší SHBG. V obou skupinách nebyl rozdíl ve věku ani v body mass indexu. Probandi ze skupiny s hormonálními změnami jako u syndromu polycystických ovarií měli statisticky významně vyšší sklon k inzulínové rezistenci.

**Závěry.** Muži s předčasným výpadem vlasů a hormonálními změnami podobnými jako u žen se syndromem polycystických ovarií by mohli představovat mužský ekvivalent syndromu polycystických ovarií. Odpověď na otázku, zda existuje mužský ekvivalent syndromu polycystických ovarií, bude však možno dát teprve tehdy, až bude známa molekulárně genetická charakteristika syndromu u žen.

**Klíčová slova:** syndrom polycystických ovarií, mužský fenotyp syndromu polycystických ovarií, androgenní alopecie, folikulostimulační hormon, sex hormon binding globulin (SHBG), metabolický syndrom, inzulínová rezistence.

## ABSTRACT

*Dušková M., Hill M., Stárka L.: The Polycystic Ovary Syndrome and Its Male Equivalent*

**Background.** The polycystic ovary syndrome is multifactorial disease. The autosomal genetic transfer of the disease predisposition is the basis for hypothesis that there can exist a male equivalent of PCOS. Androgenetic alopecia has been suggested as the symptom of the male phenotype of PCOS.

**Methods and Results.** A group of 30 men with premature hair loss was involved in the present study. In all individuals, their hormonal profile was determined and insulin tolerance test was made. Robust Mann-Whitney test and Fisher's exact test were used for statistic analysis. Based on the laboratory findings two subgroups of individuals were shown. The first one revealed similar hormonal changes as women with PCOS, namely lower SHBG, lower FSH and elevated free androgen index. The other had either no anomaly in steroid spectrum. Both subgroups did not differ in either BMI or age. The subgroup with hormonal changes resembling those of PCOS, showed a significantly higher insulin resistance than the group without these changes.

**Conclusions.** Based on our results it can be concluded that men with premature alopecia and hormonal changes partially resembling those typical for female PCOS, might probably represent the male equivalent of PCOS.

**Key words:** polycystic ovary syndrome, male phenotype of PCOS, androgenetic alopecia, FSH, SHBG, insulin resistance. *Du.*

*Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 251–255.*

Syndrom polycystických ovarií (PCOS) patří mezi časté endokrinopatie u žen, jeho výskyt se pohybuje mezi 5–10 % (1). V hodnocení jeho frekvence hraje samozřejmě roli přesné vymezení jeho definice, a ta není snadná. PCOS představuje soubor příznaků daných hormonálními

a metabolickými změnami, jejichž hranice ani intenzita není přesněji definována. Syndrom popsán v roce 1935 Steinem a Leventhalem se vyznačoval morfologicky polycystickými ovarií, klinicky poruchami cyklu a fertility, příznaky hyperandrogenémie a obezitou. Postupně

byla definice PCOS upravována. V současné době je uznávána definice z května 2003, která byla dohodnuta na společné konferenci Evropské společnosti pro lidskou reprodukci a embryologii a Americké společnosti pro reprodukční medicínu v Rotterdamu (2): PCOS by měl být diagnostikován tehdy, jsou-li splněna dvě z následujících tří kritérií: 1) oligomenorea a/nebo anovulace, 2) klinické nebo biochemické známky hyperandrogenizmu, 3) sonografický nález polycystických ovarii. PCOS je pojímán nadále jako syndrom, u kterého není rozhodující pouze jeden příznak. Není také znám žádný specifický znak v oblasti laboratorních stanovení hormonů. Inzulínová rezistence, která často PCOS provází, není také specifickým a stabilním znakem.

PCOS s sebou nese různá rizika, z nichž některá souvisejí s ženskými reprodukčními funkcemi (infertilita, patologické těhotenství, předpokládá se zvýšené riziko karcinomu endometria a ovaria) a některá jsou obecná (porušená glukózová tolerance nebo diabetes mellitus 2. typu, hypertenze, zvýšené riziko kardiovaskulárních onemocnění) (3, 4).

Není pochyb o tom, že v patogenezi PCOS hrají důležitou roli genetické faktory. Svědčí pro to častý familiární výskyt tohoto syndromu (5). Výzkum genetických příčin podobně jako u jiných komplexních syndromů naráží na řadu obtíží.

PCOS je pravděpodobně onemocnění, které je výsledkem interakce několika klíčových genů a vlivů zevního prostředí. Při hledání genetického podkladu PCOS je v literatuře popisována řada kandidátních genů. Mezi kandidátními geny pro PCOS jsou uváděny: geny zúčastněné při biosyntéze a metabolismu androgenů, v působení gonadotropinů a ve folikulogenezi, působení inzulínu, při vzniku obezity a v regulaci energetického hospodářství (5). Zatím se nepodařilo odhalit klíčové geny v etiopatogenezi PCOS, řada nadějných výsledků nebyla v dalších studiích potvrzena.

Komplexnost příznaků a genetický základ dávají vznik hypotéze o existenci mužského ekvivalentu PCOS (6–9). Předčasný výpad vlasů před 30. rokem věku byl uvažován jako jeden ze symptomů tohoto syndromu u mužů. Bohužel však androgenní alopecie (AGA) a i jiné možné známky mužského ekvivalentu PCOS jako zvýšené tělesné ochlupení nebo inzulínová rezistence byly jen sporadicky sledovány u mužských jedinců v rodinách s vyšším výskytem PCOS, a pokud se tak i stalo, chybí u mužů podezřelých z fenotypu PCOS doklady o laboratorních nálezech typických poruch steroidů a gonadotropinů a o nálezu inzulínové rezistence (8).

O předčasné AGA je známo, že je markerem pro riziko kardiovaskulárních onemocnění, poruch sacharidového metabolismu (10–13) a karcinomu prostaty (14–16). Předčasný výpad vlasů před 30. rokem se vyskytuje až u asi 30 % mužů (17). Prevalence PCOS u žen leží podle různých studií mezi 5–10 %. Z toho vyplývá, že pokud skutečně existuje mužský ekvivalent PCOS, jehož příznakem je předčasný výpad vlasů, by za něj bylo možno považovat pouze část pacientů s předčasnou alopecií.

Cílem naší studie bylo ověřit hypotézu, že část mužů s předčasnou AGA má některé podobné hormonální charakteristiky jako ženy s PCOS a zároveň i vyšší inzulínovou rezistenci. Tito muži by mohli představovat mužský ekvivalent PCOS.

## SOUBOR NEMOCNÝCH A POUŽITÉ METODY

Sledovali jsme skupinu 30 mužů, kteří vyhledali lékařské vyšetření pro předčasný výpad vlasů; někteří z nich podstoupili transplantaci vlasů. Do studie byli zařazeni pacienti, u kterých začal výpad vlasů před 30. rokem. Výpad vlasů byl charakterizován ústupem frontotemporální vlasové hranice nebo lysinou na vertexu. Sledovaní muži neměli žádné endokrinní onemocnění, nebrali žádnou hormonální léčbu ani léky na zlepšení kvality vlasů. Body mass index (BMI) těchto pacientů byl do 30 kg/m<sup>2</sup>, tedy v pásmu normy nebo mírné nadváhy. Probandi před vyšetřením podepsali informovaný souhlas, který byl schválen Etickou komisí Endokrinologického ústavu.

Pro hormonální vyšetření byla jako norma použita skupina mužů z náhodně vybraného vzorku při průzkumu jodového deficitu v České republice. Jednalo se o 256 mužů věkově odpovídajících sledovaným mužům s alopecií (tab. 1).

**Tab. 1.** Referenční rozmezí sledovaných hormonů u kontrolní skupiny mužů (věk 20–40 let) a porovnání se skupinou mužů a AGA

Hormon	jednotky	rozmezí	počet mužů s AGA mimo rozmezí	
			pod	nad
testosteron	nmol/l	13,5–31,1	6	1
17-hydroxyprogesteron	nmol/l	1,0–3,5	0	1
androstendion	nmol/l	1,7–8,6	0	4
LH	IU/l	0,5–10,0	0	0
FSH	IU/l	2,0–10,0	7	0
SHBG	nmol/l	34–66	21	0
dihydrotestosteron	nmol/l	0,9–3,6	2	2
epitestosteron	nmol/l	0,9–7,8	3	0
DHEA	nmol/l	10,8–32,6	6	3
DHEAS	μmol/l	7,2–16,1	16	2
index volného testosteronu		27–90	1	6

U všech mužů zařazených do skupiny jsme vyšetřovali základní hormonální spektrum. Byl stanovován celkový testosteron, androstendion, dehydroepiandrosteronsulfát, dehydroepiandrosteron, epitestosteron, dihydrotestosteron, sex hormon binding globulin (SHBG), luteinizační hormon (LH), folikulostimulační hormon (FSH) a byl vypočten index volného testosteronu (FAI = [(testosteron/SHBG) × 100]). Testosteron byl stanoven standardní radioimunoanalýzou za použití antiséra anti-testosteron-3-carboxymethyloxim:BSA a testosteron-3-carboxymethyloxim-tyrosylmethylesteru-[<sup>125</sup>I] jako traceru. Intra-assay a inter-assay koeficienty variace byly 7,2 % a 10 % a senzitivita 0,21 nmol/l. Androstendion byl stanoven standardní radioimunoanalýzou (RIA) s antisérem anti-androstendion-6-carboxymethyloxim:BSA a [<sup>3</sup>H] androstendionem jako tracerem. Intra-assay a inter-assay koeficienty variace byly 8,1 % a 10,2 % a senzitivita 0,39 nmol/l. 17-hydroxyprogesteron byl stanoven RIA kitem od Immunotech (Marseilles, France). SHBG byl stanoven metodou IRMA (Orion, Espoo Finland). Komerčními kity firmy Immunotech (Marseilles, France) byl stanoven LH, FSH (IRMA kit), dehydroepiandrosteron a jeho sulfát (RIA kit). Dihydrotestosteron a epitestosteron byly stanoveny s použitím původních metod (18, 19). Glukóza byla stanovena glukózo-oxidázovou metodou (Glucose analyser; Beckman, Fullerton, CA).



U každého probanda byl proveden ráno nalačno mezi 7.–9. hodinou 15minutový inzulínový toleranční test. Podle hmotnosti mu bylo aplikováno i.v. 0,1 IU/kg inzulínu (Actrapid HM). Odběry venózní krve ke stanovení glykémie byly provedeny ze zavedené kanyly z kubitální žíly tři minuty před aplikací inzulínu, dále pak v 0., 2., 4. až 15. minutě. Po skončení testu se pacient najedl a byl propuštěn při stabilizaci normoglykémie. Inzulínový toleranční test byl vyhodnocen pomocí kITT, který se vypočítá podle vzorce  $0,693/t/2$ , kde  $t/2$  je plazmatický poločas poklesu glykémie (ten lze určit analýzou poklesu glykémie od 3. do 15. minuty po i.v. aplikaci inzulínu, kdy glykémie klesají již lineárně) a 0,693 je konstanta (20, 21).

Výsledky byly zpracovány pomocí statistických metod (Robust Mann-Whitney test, sing test a Fischerův exaktní test). Byl použit statistický software Statgraphics Plus, verze 5.1.

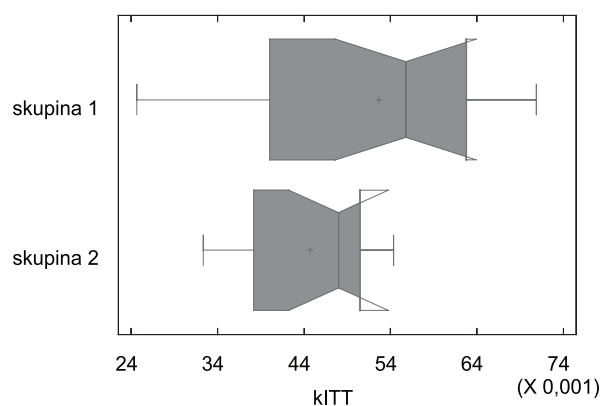
## VÝSLEDKY

U 30 mužů s předčasnou alopecií byly vyhodnoceny výsledky hormonálního vyšetření, které byly porovnány s výsledky nalezenými v kontrolním souboru (tab. 1). Ze skupiny vyšetřených pacientů jsme vybrali podskupinu 1 (n=19), která nevykazovala žádné hormonální změny nebo jen nízké hodnoty SHBG. Podskupinu 2 tvořili muži (n=11), kteří měli obdobné změny, jako jsou popisovány v literatuře u žen s PCOS. Nemocní v této podskupině měli nízké hladiny SHBG a FSH nebo nízké hodnoty SHBG a vysoký index volného testosteronu ve srovnání s kontrolami. Tyto dvě podskupiny se mezi sebou nelišily ve věku ani v BMI. Průměr věku ve skupině 1 byl 30,8 roku a průměr BMI 25,58 kg/m<sup>2</sup>. Ve skupině 2 byl průměr věku 34 let a BMI 25,59 kg/m<sup>2</sup>. Celková hormonální charakteristika vyšetřených mužů je uvedena v tabulce 2. Ve střední části tabulky jsou uvedeny počty parametrů, které ležely v normálním rozmezí nebo mimo ně v porovnání s kontrolním souborem.

V těchto dvou podskupinách jsme porovnali kITT jako kritérium inzulínové senzitivity. Skupina 2 vykazovala statisticky významně vyšší sklon k inzulínové rezistenci než skupina 1, vyhodnoceno pomocí Mannova-Whitneyho testu na hladině významnosti  $p=0,03$  (graf 1).

## DISKUZE

Vzhledem k autozomálnímu přenosu PCOS je možno předpokládat, že určitá forma tohoto onemocnění se může vyskytovat i u mužů (8, 9). Jako o klinické známce PCOS ekvivalentu u mužů se uvažovalo o nadměrném ochlupení, o AGA nebo o inzulínové rezistenci. Průkaz existence



**Graf 1.** Signifikantní rozdíl v kITT, které určuje inzulínovou senzitivitu v inzulínovém tolerančním testu, ve skupině 1 bez hormonálních změn a ve skupině 2 s hormonálními změnami jako ženy s PCOS

**Tab. 2.** Rozdíly ve frekvenci probandů pod, uvnitř a nad normálním rozmezím hormonálního spektra mezi muži s předčasnou AGA

Sledované parametry	SKUPINA A						SKUPINA B						
	celkem	n			rozdíl od 0 (Sign test)	Fisherův exact. test*	celkem	n			rozdíl od 0 (Sign test)	Fisherův exact. test*	Mann-Whitney test
		referen. rozmezí	pod	uvnitř				nad	referen. rozmezí	pod			
SHBG	19	10	9	0	$p<0,004$	$p<0,0004$	11	11	0	0	$p<0,0001$	$p<0,0001$	$p<0,04$
FSH	19	0	19	0	NS	NS	11	7	4	0	$p<0,03$	$p<0,004$	$p<0,004$
androstendion	19	0	15	4	NS	NS	11	0	11	0	NS	NS	NS
epitestosteron	16	2	14	0	NS	NS	10	1	9	0	NS	NS	NS
dihydrotestosteron	19	1	16	2	NS	NS	11	1	10	0	NS	NS	NS
testosteron	19	3	15	1	NS	NS	11	3	8	0	NS	NS	NS
17-OH-progesteron	19	0	18	1	NS	NS	11	0	11	0	NS	NS	NS
DHEA	17	3	14	0	NS	NS	9	3	3	3	NS	NS	NS
DHEAS	17	11	4	2	$p<0,03$	$p<0,0001$	10	5	5	0	NS( $p<0,08$ )	$p<0,04$	NS
LH	19	0	19	0	NS	NS	11	0	11	0	NS	NS	NS
FAI	19	1	17	1	NS	NS	11	0	6	5	NS( $p<0,08$ )	$p<0,04$	NS ( $p<0,06$ )

\*Ve druhé metodě testování statistické významnosti frekvence pacientů s hodnotami sledovaných parametrů mimo fyziologická rozmezí se vyšlo z předpokladu, že kontrolní osoby mají sledované hormony ve fyziologickém rozmezí. U některých hormonů byly naměřené hodnoty ve skupině pacientů pod nebo nad fyziologickým rozmezím, což znemožnilo použití Fisherova exaktního testu čtyřpolní tabulky, který je citlivý na malé počty srovnávaných subjektů. Aby bylo možné test i v tomto případě použít, frekvence pacientů s normálními hodnotami byla sloučena s výskytem méně častých abnormalit a takto určená frekvence byla porovnána s hodnotami byla porovnána s hodnotami naměřenými u kontrolních jedinců, které byly brány jako 100%, s podmínkou, že počet pacientů i kontrol je stejný.

mužského fenotypu obdobného s PCOS u žen je však obtížný. Z platné definice PCOS jsou pro muže nepoužitelná kritéria porušeného menstruačního cyklu a morfologického obrazu ovaríí. Kritérium hyperandrogenémie nebo androgenizace lze použít jen s krajním omezením z důvodu zcela jiných poměrů koncentrace androgenů u mužů a u žen a také pro sníženou citlivost mužů na androgeny proti ženám. U PCOS je přijímán genetický základ onemocnění s autozomálněm přenosem (7). Průkaz na základě genetické charakteristiky je zatím nemožný, protože dosud není známo, které geny při vzniku PCOS u žen hrají roli. Některé práce svědčí pro společný gen pro PCOS i AGA (6). Genealogické studie sice dokumentovaly familiární výskyt některých z uvedených známek u mužů v rodinách s vyšší frekvencí výskytu PCOS u ženských jedinců (5), ale jejich hormonální charakteristika uvedena nebyla.

Přitom vytipování mužského ekvivalentu syndromu polycystických ovaríí neznámá pouze pokrok v poznání povahy tohoto onemocnění, ale může mít i praktický význam. Vzhledem k tomu, že PCOS představuje ve svém průběhu v pozdějším věku u žen zvýšené riziko kardiovaskulárních onemocnění, vyšší frekvenci inzulínové rezistence až diabetes mellitus, nebo méně příznivý obraz lipidogramu (24), lze očekávat, že podobné důsledky by měl i mužský ekvivalent PCOS.

Za možnou klinickou známku mužského ekvivalentu PCOS je některými autory uváděna předčasná AGA, ale tato představa doložena nebyla. Prevalence předčasné mužské alopecie je vyšší než prevalence syndromu polycystických ovaríí u žen, a proto je třeba předpokládat, že jen u části postižených mužů by mohla být AGA považována za známku mužského fenotypu PCOS.

Při hledání obdobných hormonálních změn u mužů s předčasnou AGA, jako mají ženy s PCOS, jsme se zaměřili na sledování hladin androgenů, gonadotropinů a SHBG. Na rozdíl od žen nelze očekávat, že by u mužů výraznější změny v hladinách celkového testosteronu charakterizovaly PCOS. Zvýšení hladiny testosteronu u žen s PCOS je v absolutních i relativních hodnotách poměrně malé a při širokém rozmezí referenčních hodnot u mužů, které jsou řádově vyšší než u žen, nelze očekávat statistickou významnost. Také citlivost na androgeny je u žen vyšší než u mužů. Naopak hladiny gonadotropinů se zdají být pro vyšetření vhodnější u mužů než u žen s jejich cyklickou sekrecí. U mužů s AGA jsme nacházeli často nízké hladiny FSH. U žen se pokládá za typické pro PCOS spíše relativní zvýšení LH proti FSH. Příčina tohoto změněného poměru byla hledána i v aktivaci exprese genu pro folistatin, a tedy v relativním snížení sekrece FSH, nebo v posunu poměru produkce gonadotropinů ve prospěch LH.

Další hormonální známkou PCOS, ale také například metabolického syndromu, jsou nízké hladiny SHBG a důsledkem snížení SHBG je i zvýšení volných androgenů. Společným příznakem části žen s PCOS a mužů s předčasnou AGA je vyšší rezistence na inzulín, tedy opět znak společný s metabolickým syndromem. PCOS s riziky hypertenze, hyperlipidémie a inzulínové rezistence až diabetes mellitus a obezity je jistě na první pohled blízký metabolickému syndromu. Je tedy otázkou, zda se jedná o dva patogeneticky odlišné stavy. Pro PCOS je však charakteristická hyperandrogenémie, která patří i do definice tohoto syndromu.

U metabolického syndromu bývají však nacházeny u mužů pravidelně nízké androgeny (22, 23).

O mužích s předčasným výpadem vlasů, kteří mají podobné hormonální změny jako ženy s PCOS, a to nízké SHBG, vyšší index volného testosteronu a nižší FSH, by se tedy dalo předpokládat, že mohou představovat mužský ekvivalent PCOS, spíše než že androgenní alopecie je známkou metabolického syndromu. Bez ohledu na to, zda je AGA asociována s metabolickým syndromem, nebo zda je projevem mužského fenotypu PCOS je třeba počítat s tím, že je spojena s řadou rizik v pozdějším věku. Vedle pro muže specifického zvýšení rizika pro onemocnění prostaty, ať již benigní hyperplazie nebo karcinomu (14–16), jsou to rizika společná s riziky žen s PCOS: vyšší incidence poruch metabolismu glukózy až diabetes mellitus 2. typu a kardiovaskulárních onemocnění (11–13, 24, 25). Proto má potvrzení existence mužského ekvivalentu PCOS nejen význam pro bližší studium patogeneze a genetického pozadí PCOS, ale i pro běžnou lékařskou praxi. Předčasná AGA by měla upozornit na možnost budoucího zvýšeného rizika hypertenze, hyperlipidémie, inzulínové rezistence nebo diabetu.

#### Zkratky

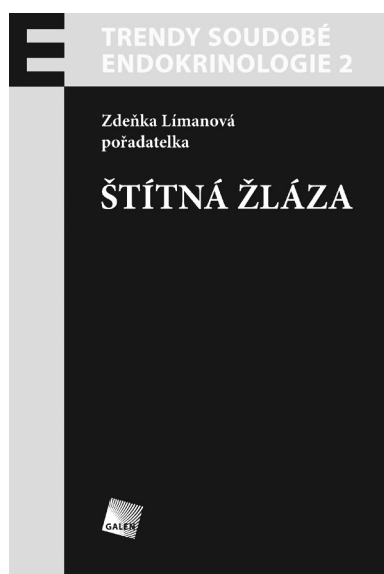
AGA	– androgenní alopecie
BMI	– body mass index
FAI	– index volného testosteronu
FSH	– folikulostimulační hormon
KITT	– konstantní pokles glykémie při inzulínovém tolerančním stresu
IRMA	– radioimunometrie
LH	– luteinizační hormon
PCOS	– syndrom polycystických ovaríí
RIA	– radioimunoanalýza
SHBG	– sex hormon binding globulin

#### LITERATURA

1. **Diamanti-Kandarakis, E., Dunaif, A.:** New perspectives in polycystic ovary syndrome. *Trends Endocrinol. Metab.*, 1996, 7, s. 267-271.
2. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.*, 2004, 81(1), s. 19-25.
3. **Tchernof, A., Despres, J. P.:** Sex steroid hormones, sex hormone-binding globulin and obesity in men and women. *Horm. Metab. Res.*, 2000, 32, s. 526-536.
4. **Cibula, D., Stárka, L., Vrbíková, J. et al.:** Syndrom polycystických ovaríí. Praha, Maxdorf-Jessenius, 2004.
5. **Lunde, O., Magnus, P., Sandvik, L. et al.:** Familial clustering in the polycystic ovarian syndrome. *Gynecol. Obstet. Incest.*, 1989, 28, s. 23-30.
6. **Carey, A. H., Chan, K. L., Short F. et al.:** Evidence for a single gene effect causing polycystic ovaries and male pattern baldness. *Clin. Endocrinol.*, 1993, 38, s. 653-658.
7. **Govind, A., Obhrai, M. S., Clayton, R. N.:** Polycystic ovaries are inherited as an autosomal dominant trait: analysis of 29 polycystic ovary syndrome and 10 control families. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999, 84, s. 38-53.
8. **Stárka, L., Hill, M., Poláček, V.:** Hormonal profile of men with premature androgenetic alopecia. *Sbor. Lék.*, 2000, 101, s. 17-22.

9. **Lergo, R. S.:** Is there a male phenotype in polycystic ovary syndrome families? *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, 2000, 13 (Suppl. 5), s. 1307-1309.
10. **Lofuto, P. A., Chac, C., Ajani, U. A. et al.:** Male pattern baldness and coronary heart disease. *Arch. Int. Med.*, 2000, 160, s. 165-171.
11. **Herrera, C. R., D'Agostino, R. B., Gertsman, B. B. et al.:** Baldness nad coronary heart disease rates in men from the Framingham Study. *Am. J. Epidemiol.*, 1995, 142, s. 828-833.
12. **Lesko, S. M., Rosenberg, L., Shapiro, S.:** A case-control study of baldness in relation to myocardial infarction in men. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1993, 269, s. 998-1003.
13. **Ford, E. S., Freedman, D. S., Byers, T.:** Baldness and ischemic heart disease in a national sample of men. *Amer. J. Epidemiol.*, 1996, 143, s. 651-657.
14. **Gilles, G. G., Severi, G., Sinclair, R. et al.:** Androgenetic alopecia and prostate cancer: findings from an Australian case-control study. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2002, 11, s. 549.
15. **Denmark-Wahnefried, W., Schildkraut, J. M., Thompson, D. et al.:** Early onset baldness and prostate cancer risk. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2000, 9, 3, s. 325-328.
16. **Hawk, E., Breslow, R. A., Graubard, B. I.:** Male pattern baldness and clinical prostate cancer in the epidemiologic follow-up of the first National Health and Nutrition Examination Survey. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2000, 9, 5, s. 523-527.
17. **Sinclair, R. D., Dawber, R. P. R.:** Androgenetic alopecia in men and women. *Clinics Dermatol.*, 2001, 19, s. 167-178.
18. **Bílek, R., Hampl, R., Putz, Z., Stárka, L.:** Radioimmunoassay of epitestosterone: methodology, thermodynamic aspects and applications. *J. Steroid Biochem.*, 1987, 28 s. 723-729.
19. **Hampl, R., Putz, Z., Stárka, L.:** Radioimmunological determination of dihydrotestosterone and its value for laboratory diagnostics. *Biochem. Clin. Bohemoslov.*, 1990, 19, s. 157-163.
20. **Graci, S., Baratta, C., Degano, C. et al.:** The intravenous inzulin tolerance test is an accurate method for screening a general population for inzulin resistance and related abnormalities. *J. Endocrinol. Invest.*, 1999, 22, s. 472-475.
21. **Vrbíková, J., Bendlová, B., Hill, M. et al.:** Insulin sensitivity and  $\beta$ -cell function in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care*, 2002, 25, s. 1217-1222.
22. **Walker, B. R.:** Steroid metabolism in metabolic syndrome X. *Best Practice Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001, 15, s. 111-112.
23. **Kupelian, V., Page, S. T., Araujo, A. B. et al.:** Low sex hormone-binding globulin, total testosterone and symptomatic androgen deficiency are associated with development of the metabolic syndrome in nonobese men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2006, 91, s. 843-850.
24. **Srikanthan, P., Korenman, S., Davis, S.:** Polycystic ovarian syndrome: the next cardiovascular dilemma in women? *Endocrinol. Metab. Clin. North Amer.*, 2006, 35, s. 611- 631.
25. **Poduto, P. A., Chac, C., Alani, U. A. et al.:** Male pattern baldness and coronary heart disease. *Arch. Int. Med.*, 2000, 160, s.165-171.

*Studie vznikla v rámci grantového projektu IGA MZ ČR č. NR/8525-5.*



## ŠTÍTNÁ ŽLÁZA

### Trendy soudobé endokrinologie. Svazek 2

*Zdeňka Límanová, pořadatelka*

Druhý svazek edice Trendy soudobé endokrinologie je věnován problematice štítné žlázy. Autorský kolektiv zkušených odborníků z několika klinických pracovišť zpracoval dané téma komplexně, od diagnostiky, přes popis jednotlivých onemocnění štítné žlázy až po terapii a genetiku. Publikaci uvítají nejen endokrinologové, ale zaujme jistě i praktické lékaře, internisty a lékaře jiných odborností, kteří se s onemocněním štítné žlázy setkávají.

*Vydal Galén v roce 2006, ISBN 80-7262-400-8, format 155 x 225 mm, váz., bar., 3712 str., cena 490 Kč.*

**Objednávku můžete poslat na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz**

## PŮVODNÍ PRÁCE

## Polyglandulární aktivace autoimunity jako projev subklinických endokrinopatií

<sup>1, 2</sup>Šterzl I., <sup>1, 2</sup>Hrdá P., <sup>1</sup>Matucha P., <sup>1</sup>Vavrejšnová V., <sup>1</sup>Vondra K., <sup>1</sup>Zamrazil V.

<sup>1</sup>Endokrinologický ústav, Praha

<sup>2</sup>Ústav imunologie a mikrobiologie I. LF UK a VFN, Praha

### ABSTRAKT

**Východisko.** Mezi nejčastější autoimunitní endokrinopatie patří autoimunitní tyreopatie. Autoimunitní tyreopatie se vyskytují jak samostatně, tak ve vazbě na známé polyglandulární syndromy typu I–III.

**Metody a výsledky.** V poslední dekádě jsme sledovali pacienty s autoimunitní tyreoiditidou, u kterých docházelo k vzájemné asociaci autoimunitních endokrinopatií, a tuto skupinu jsme nazvali „polyglandulární aktivace autoimunity“. Stanovovali jsme frekvenci výskytu autoprotilátek proti dalším endokrinním orgánům a nejčastější byl výskyt autoprotilátek proti steroidy produkcujícím buňkám (proti ovarium 28 %, proti nadledvině 23 %, proti testes 12%). Vzhledem k nejčastějšímu výskytu autoprotilátek proti steroidy produkcujícím buňkám jsme se zaměřili na skupinu pacientů s autoimunitní tyreoiditidou se současným výskytem autoprotilátek proti nadledvinám. U těchto pacientů byly v popředí klinického obrazu poruchy regulace na úrovni metabolické, cirkulační, s projevy dyskomfortu (subfebrilie, artralgie a únava). Těžká únava u těchto pacientů byla vázaná na změny hladin a poměru melatoninu a serotoninu a v oblasti autoprotilátek se především uplatnily autoprotilátky proti steroidy produkcujícím buňkám, a to proti jednotlivým buňkám vrstev kůry nadledvin.

**Závěry.** Přítomnost autoprotilátek měla vliv i na funkční odpověď, a to na poměr ACTH/kortizol. Auto-protilátky nebyly proti 21-hydroxyláze (typické pro autoimunitní polyglandulární syndrom II. typu), ale proti antigenům o jiné molekulové hmotnosti.

**Klíčová slova:** autoimunitní tyreoiditida, polyglandulární aktivace autoimunity, autoimunitní polyglandulární syndrom, autoprotilátky.

### ABSTRACT

*Šterzl I., Hrdá P., Matucha P. et al.: Polyglandular Activation of Autoimmunity as a Manifestation of Subclinical Endocrinopathies*

**Background.** Autoimmune thyropathies belong to the most frequently occurring autoimmune endocrinopathies. Autoimmune thyropathies occur either independently or linked to known polyglandular syndromes of type I–III.

**Methods and Results.** During the last decade, we observed a group of patients with autoimmune thyroiditis, in which autoimmune endocrinopathies were mutually associated and named the symptoms of this group „polyglandular activation of autoimmunity“. The frequency of the occurrence of autoantibodies against other endocrine organs in this group was determined and the most frequent was the occurrence of the autoantibodies against steroid producing cells – anti-ovary 28 %, anti-adrenal 23 %, anti-testes 12 %. Considering the most frequent occurrence of autoantibodies against steroid producing cells, attention has been paid namely to patients with autoimmune thyroiditis and a concurrent occurrence of anti-adrenal autoantibodies. In the foreground of the clinical picture of these patients were dysregulations on the metabolic and circulation levels together with symptoms of discomfort (subfebrile condition, arthralgia and fatigue). Heavy fatigue of these patients was linked to the changes of levels and mutual ratio of melatonin and serotonin and regarding autoantibodies, mainly autoantibodies against steroid producing cells, namely against the particular cells of the layers of adrenal cortex played a role. **Conclusions.** The presence of autoantibodies influenced also the functional response, namely the ACTH/cortisol ratio. Autoantibodies detected were not anti-21-hydroxylase autoantibodies, typical for autoimmune polyglandular syndrome II, but antibodies against antigens of other molecular weight.

**Key words:** autoimmune thyroiditis, polyglandular activation of autoimmunity, autoimmune polyglandular syndrome, autoantibodies. Št.

*Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 256–261.*

**A**utoimunitní tyreopatie jsou nejčastější autoimunitní endokrinopatie, se kterými se setkáváme v klinické praxi. Vyskytují se jak samostatně, tak ve vazbě na známé autoimunitní polyglandulární syndromy (APS) typ I–III (1). V poslední dekádě jsme v Endokrinologickém ústavu sledovali pacienty s autoimunitní tyreoiditidou, u kterých docházelo k vzájemné asociaci autoimunitních endokrinopatií, a tuto skupinu jsme nazvali polyglandulární aktivace autoimunity (PAA) (2). PAA je asociovaný výskyt autoprotilátek proti dalším endokrinním orgánům u jasně definované autoimunitní endokrinopatie (např. u autoimunitní tyreoiditidy), bez přítomnosti klinického projevu postižení orgánů, proti kterým jsou protilátky detekované. Klinické projevy plného orgánového postižení se v budoucnosti mohou nebo nemusí projevit. Mezi subklinické projevy aktivace autoimunitního procesu patří únava, kardiovaskulární příznaky, metabolické příznaky, porušená reakce na stres (3). Únava u PAA se často váže i s jinými projevy, jako jsou subfebrilie, bolesti v krku, bolestivé lymfatické uzliny, svalová slabost, myalgie, artralgie, neuropsychické potíže. Mnohdy tato symptomatologie předchází několik let vzniku jednoznačně diagnostikované autoimunitní tyreoiditidy (4).

V rámci polyglandulární aktivace autoimunity se u pacientů často vyskytují autoprotilátky proti antigenům nadledvin. Přítomnost autoprotilátek proti nadledvinám je markerem nadledvinového autoimunitního procesu a může predikovat vývoj klinických příznaků nadledvinové nedostatečnosti (5). Několik prací ukazuje, že nadledvinový autoimunitní proces nemusí nezbytně vést ke klinicky vyjádřené Addisonově chorobě (6–8). Zvýšené riziko progresu do klinicky vyjádřené Addisonovy choroby u dospělých bylo popsáno u pacientů s vysokými titry autoprotilátek proti nadledvinám a 21 hydroxyláze v asociaci s HLA-DR3 a 21 hydroxyláza je považována za hlavní komponentu autoprotilátek proti nadledvinám (9, 10). Práci, které sledují funkční poruchy u pacientů s autoprotilátkami proti nadledvinám, kde chybí charakteristický klinický obraz, není mnoho. Tyto práce prokázaly poruchu reaktivity ACTH po stimulaci CRH (11) a to, že subklinické poruchy funkce nadledvin mohou být pouze přechodné, jak prokázal De Bellis (12).

Cílem práce bylo laboratorně a klinicky charakterizovat význam polyglandulární aktivace autoimunity jako subklinické formy endokrinopatie. Sledovali jsme několik parametrů. Jednak jsme u pacientů s autoimunitní tyreoiditidou stanovovali frekvenci extratyreoidálních autoprotilátek. Dále jsme u pacientů s autoimunitní tyreoiditidou sledovali výskyt únavy jako projevu aktivace autoimunitního procesu a porovnávali jsme stupeň únavy s výskytem dalších orgánově specifických a nespecifických autoprotilátek, biochemickými parametry lipidového metabolismu, glukózové tolerance, ionizovaného vápníku a hladinami melatoninu a serotoninu. Ve vazbě k únavě jsme sledovali i funkční rezervu hypothalamo–hypofýzo–nadledvinové osy (synacthenový test, ACTH/kortizol index) a u vybraných pacientů jsme provedli frakcionovaný synacthenový test. V rámci nadledvinové autoimunity jsme sledovali autoprotilátky proti 21-hydroxyláze u pacientů s PAA a APS II a pro zpřesnění detekce autoprotilátek proti nadledvinám u pacientů s PAA jsme detekovali tyto autoprotilátky i pomocí imunoblotu.

## SOUBOR NEMOCNÝCH A POUŽITÉ METODY

### Soubor

#### *Výskyt extratyreoidálních autoprotilátek u autoimunitní tyreoiditidy*

Soubor tvořilo 696 pacientek (průměrný věk 47,9 let) s autoimunitní tyreoiditidou, které byly vybrány ze skupiny 1939 pacientek vyšetřovaných v Endokrinologickém ústavu v Praze na přítomnost autoprotilátek proti tyreoidální peroxidáze. Diagnóza autoimunitní tyreoiditidy byla stanovena na základě klinického, laboratorního a sonografického vyšetření.

#### *Sledování únavy jako projevu aktivace autoimunitního procesu*

Soubor tvořilo 118 žen s autoimunitní tyreoiditidou s pozitivními autoprotilátkami proti ovarium (průměrný věk 42,05 let). Soubor jsme dle stupně únavy rozdělili do tří skupin:

A. skupina 50 neunavených (průměrný věk 39,32 let), B. skupina 30 občas unavených (průměrný věk 41,20 let), C. skupina 38 těžce unavených (průměrný věk 46,3 let), kde únava odpovídala kritériím chronického únavového syndromu (CFS).

#### *Funkční rezerva hypothalamo–hypofýzo–nadledvinové osy ve vazbě k únavě*

##### *A. 0,25 mg synacthenový test, index ACTH/kortizol*

Soubor tvořilo 46 žen (průměrný věk 47,52 let) s pozitivními autoprotilátkami proti antigenům nadledvin. Soubor byl rozdělen do dvou skupin: 1. skupina – 24 probandů s pozitivními autoprotilátkami proti antigenům nadledvin a proti tyreoidální peroxidáze; 2. skupina – 22 probandů s pozitivními autoprotilátkami proti antigenům nadledvin bez přítomnosti autoprotilátek proti tyreoidální peroxidáze. Jako kontrolní soubor sloužilo 23 žen (průměrný věk 46,56 let) s negativními autoprotilátkami proti antigenům nadledvin. Tento soubor byl rozdělen na dvě skupiny: 3. skupina – 12 probandů s pozitivními autoprotilátkami proti tyreoidální peroxidáze; 4. skupina – 11 probandů bez laboratorních známek tyreoidální autoimunity.

##### *B. Frakcionovaný synacthenový test*

Soubor tvořily 2 skupiny pacientů: 1. skupina – 5 unavených pacientek (průměrný věk 40,6 let) s autoimunitní tyreoiditidou a současným nálezem protilátek proti nadledvinám; 2. skupina – 4 neunavené pacientky (průměrný věk 53 let) s autoimunitní tyreoiditidou bez nálezu autoprotilátek proti nadledvinám.

#### *Detekce autoprotilátek proti antigenům nadledvin*

Probandi byli vybráni z pacientů Endokrinologického ústavu v Praze. Na základě detekce orgánově specifických autoprotilátek a klinického stavu jsme vybrali 2 skupiny autoimunitních endokrinopatií:

1. skupina – 20 pacientů s PAA;
2. skupina – 10 pacientů s APS II. typu.

Průměrný věk pacientů v 1. skupině byl 43,9 let, ve II. skupině 42,4 let.

Do skupiny PAA byli zařazeni probandi s autoimunitní tyreoiditidou a laboratorním nálezem přítomnosti další orgánově specifické protilátky. Pacienti s APS II. typu byli vybráni na základě anamnestických dat o adrenokortikální nedostatečnosti, přítomnosti autoprotilátek proti 21 hydroxyláze, tyreoidální peroxidáze a/nebo tyreoglobulinu a/nebo dekarboxyláze kyseliny glutamové. V době studie všichni pacienti užívali substituční terapii.

Pro zpřesnění detekce orgánově specifických autoprotilátek byla provedena studie, kde jsme u 16 pacientů ze skupiny s polyglandu-

lární aktivací autoimunity s přítomností autoprotilátek proti nadledvinám, stanovených nepřímou imunofluorescencí, detekovali tyto autoprotilátky pomocí imunoblotu.

### Metody

Autoprotilátky proti tyreoidální peroxidáze a proti tyreoglobulinu ze séra byly stanoveny metodou ELISA (AUTOSTAT II, firma Congent Diagnostics Ltd, UK). Autoprotilátky proti ovariím, Langerhansovým ostrůvkům, gastroparietálním buňkám, nadledvinám a buněčným jádrům byly stanoveny ze séra pomocí nepřímé imunofluorescence. Jako substrát byly použity kryostatové řezy z opičích orgánů. Autoprotilátky proti dekarboxyláze kyseliny glutamové (GAD), specifickému antigenu Langerhansových ostrůvků 2 (IA2) a 21-hydroxyláze (21-OH) byly detekovány pomocí RIA metody (CIS Bio International, Francie).

Serotonin ze séra byl stanoven pomocí metody ELISA (Imunotech – a Coulter company, Francie). Melatonin z moči byl stanoven metodou ELISA (6-sulfatoxymelatonin ELISA kit, firma IBL, Německo). Stanovení triglyceridů, cholesterolu, HDL cholesterolu, glykémie a ionizovaného vápníku bylo provedeno ze séra enzymatickými metodami (kit Merck, přístroj Merck Vita-Lab Eclipse)

Hladiny kortizolu jsme sledovali pomocí radioimunoeseje a hladiny ACTH pomocí komerčního RIA kitu (CIS Bio International, Francie). Hladiny kortizolu jsme sledovali jednak bazální (0 minuta) a jednak 30 a 60 minut po i.v. aplikaci 0,25 mg synactenu (syntetický ACTH). Z naměřených bazálních hladin kortizolu a ACTH jsme vypočítali ACTH/kortizol index ( $\text{ACTH}(\text{pg/ml})/\text{kortizol}(\text{nmol/L}) \times 100$ ). Při frakcionovaném synactenovém testu jsme dávku synactenu snížili na 0,05 mg a postupně jsem po týdnů zvyšovali na dávku 0,1 mg a dále na 0,15 mg. Metodický postup byl jako u klasického testu, pouze se stimulační test lišil v době trvání. Po frakcionovaném testu jsme hladinu kortizolemie sledovali ve 30., 60. a 120. minutě.

Pro provedení imunoblotu byla zdravá opičí tkáň (nadledviny, macaca mulatta) získána od firmy BioTest sro., pobočka Konárovice.

### Homogenizace opičích nadledvin

Cca 1 g opičích nadledvin byl homogenizován pomocí Heilmayerova homogenizátoru v 10 ml ledového PBS. Všechny práce s opičí tkání probíhaly na ledu.

### Izolace mikrozomální frakce opičích nadledvin

Izolace mikrozomální frakce byla provedena dvoukrokovou centrifugací za použití preparativní ultracentrifugy Beckman L8-55 s rotorem Ti 50 (při 4 °C a 10 000 g po dobu 35 min, a následně supernatant při 4 °C a 105 000 g po dobu 65 min). Sediment z druhého kroku centrifugace byl resuspendován v PBS a ve vzniklém roztoku byla zjištěna koncentrace proteinů mikrozomální frakce Lowryho metodou s použitím BSA jako proteinového standardu (cca 1 mg/ml).

### Elektroforéza (SDS-PAGE)

25  $\mu\text{l}$  a 50  $\mu\text{l}$  buněčného lyzátu mikrozomální frakce (odpovídající 25  $\mu\text{g}$  a 50  $\mu\text{g}$  proteinů mikrozomální frakce) spolu s 25  $\mu\text{l}$  přidaného standardu molekulové hmotnosti ( $\beta$ -galaktosidáza z *E. coli*, 116 kD, Sigma) bylo separováno po denaturaci ve vzorkovém pufru v redukčních podmínkách (100 °C, 5 min, 5% 2-merkaptoethanol) na 14% polyakrylamidovém gelu s přidavkem SDS podle Laemmliho, jako standard molekulové hmotnosti sloužil „Low Range Prestained Molecular Weight Marker for SDS-PAGE“ od firmy Biorad. Separace proběhla při počátečním napětí 70 V po dobu 30 minut a při následném napětí 130 V po dobu cca 120 min. Pro kontrolu separace proteinů bylo použito barve-

ní proteinů pomocí Coomassie Blue v části elektroforetického gelu.

### Blotting

Přenos proteinů z elektroforetického gelu na nitrocelulózovou membránu (Protran BA 85, Schleicher & Schuell) proběhl v podmínkách „semidry transfer unit“ od firmy Amersham za použití transferového pufru (Tris/glycin ve 20% metanolu) a proudou 200 mA po dobu 60 minut.

Účinnost přenosu byla kontrolována obarvením gelu po přenosu pomocí Coomassie Blue.

### Detekce vazby autoprotilátek na antigeny nadledvin

Vazba autoprotilátek v séru na proteiny mikrozomální frakce opičích nadledvin byla detekována po 30minutovém blokování membrány 1% roztokem Tween 20 v pufru Tris AP (0,1M Tris – 0,1M NaCl – 2,5 mM  $\text{MgCl}_2$ ), inkubaci s patientskými séry (ředění 1:50 v pufru Tris AP s 0,1% Tween 20) přes noc, trojnásobným promytím pufrům Tris AP s 0,1% Tween 20, 60minutové inkubaci se sekundární protilátkou značenou alkalickou fosfatázou (Alkaline Phosphatase-conjugated AffiniPure Goat Anti-Human IgG (H+L), ředění 1:10000 v pufru Tris AP s 0,1% Tween 20), po trojnásobným promytím pufrům Tris AP s 0,1% Tween 20 a přidavku kombinace NBT (Nitro Blue Tetrazolium, 0,33 mg/ml Tris AP) s BCIP (5-brom-4-chlor-3-indolyl fosfát, 5 mg/ml dimethylformamidu), 30:1 – substrátu pro enzymatickou reakci, která byla zastavena destilovanou vodou, po vzniku výsledného zbarvení.

## VÝSLEDKY

### Výskyt extratyreoidálních autoprotilátek u autoimunitní tyreoiditidy

Ukazuje se, že u autoimunitní tyreoiditidy je nejčastější výskyt autoprotilátek proti steroidy produkujícím buňkám (proti ovariím 28 %, proti nadledvině 23 %). Frekvence výskytu extratyreoidálních autoprotilátek u autoimunitní tyreoiditidy je znázorněna v tabulce 1.

### Sledování únavy jako projevu aktivace autoimunitního procesu

Ze souboru 118 pacientek s autoimunitní tyreoiditidou a současnou pozitivitou autoprotilátek proti ovariím bylo 50 pacientek, tj. 42,4 % neunavených, občas unavených bylo 30 pacientek, tj. 25,4 %, a těžká únava odpovídající kritériím CFS byla u 38 pacientek, tj. 32,2 %. Unavených bez ohledu na tíži únavy bylo tedy 68 pacientek, tj. 57,6 %.

Výskyt extratyreoidálních autoprotilátek u jednotlivých skupin je znázorněn v tabulce 2.

Ve skupině C (těžká únava) jsme našli statisticky významně vyšší výskyt autoprotilátek proti nadledvině ( $p=0,05$ ) a proti Langerhansovým ostrůvkům ( $p=0,01$ ) v porovnání se skupinou A (neunavené).

U skupiny C (těžce unavené) jsme našli statisticky významnou vazbu k vyšším hladinám serotoninu ( $p=0,013$ ) a nižším hladinám melatoninu ( $p=0,05$ ) oproti skupině A (neunavené).

Hladiny serotoninu byly vyšší i u skupiny B (občas unavené) ( $p=0,016$ ) oproti skupině A (neunavené). Pro skrínink závažnosti případů byl vypočítán index poměru melatoninu a serotoninu, který statisticky významně poklesl ( $p=0,003$ ) u skupiny C (těžká únava) oproti skupině A.

**Tab. 1.** Výskyt extratyreoidálních autoprotilátek u autoimunitní tyreoiditidy

	Celkový počet vyšetřených	počet pozitivních
anti NI	1448	305 (21,1 %)
anti NII	1448	44 (3 %)
anti NIII	1448	283 (19,5 %)
anti NIV	1448	131 (9 %)
autoprotilátky proti ovariím	1254	357 (28,5 %)
autoprotilátky proti testes	104	13 (12,5 %)
anti LO	309	107 (8,2 %)
autoprotilátky proti paratyreoidee	88	9 (10,2 %)
GPCAb	1508	89 (5,9 %)
ANAb	1508	394 (26,1 %)
AMAb	1508	47 (3,1 %)
SMAb	1508	36 (2,4 %)
ASMAb	1508	3 (0,2 %)

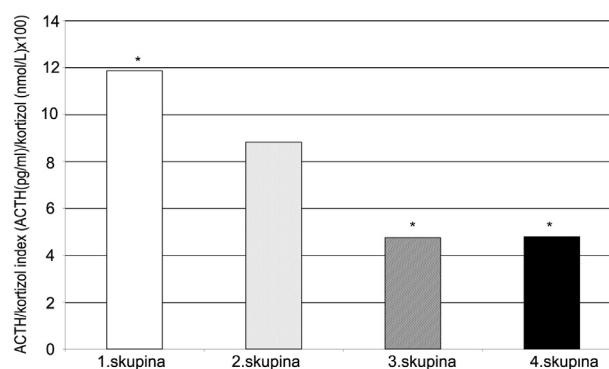
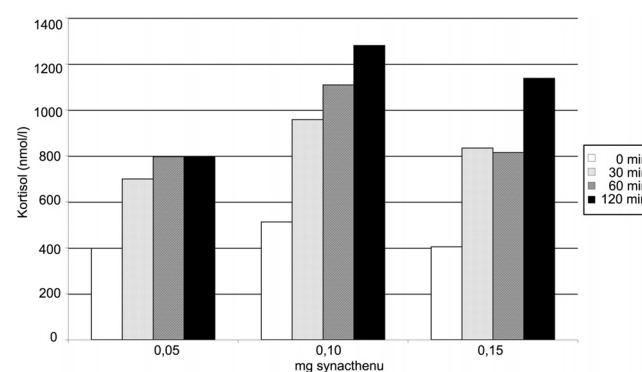
anti NI-NIII – autoprotilátky proti kůře nadledvin: NI – zona glomerulosa, NII – zona fasciculata, NIII – zona reticularis, anti NIV – autoprotilátky proti dřeni nadledvin, anti GPCAb – autoprotilátky proti parietálním buňkám žaludku, ANAb – autoprotilátky proti buněčným jádrům, AMAb – autoprotilátky proti mitochondriím, SMAb – autoprotilátky proti hladkému svalu, ASMAb – autoprotilátky proti příčně pruhovanému svalu, anti LO – autoprotilátky proti Langerhansovým ostrůvkům

**Tab. 2.** Výskyt jednotlivých autoprotilátek ve vazbě na únavu (n=118)

	Skupina A (neunavené)		skupina B (unavené občas)		skupina C (těžce unavené)	
	počet	%	počet	%	počet	%
autoprotilátky proti ovariím	50	100	30	100	38	100
autoprotilátky proti tyreoidální peroxidáze	50	100	30	100	38	100
systémové autoprotilátky	15	30	15	50	17	44,7
anti NI-NIII	11	22	11	36,6	19*	50
anti NIV	7	14	7	23,3	5	13,1
anti GPCAb	6	12	7	23,3	5	13,1
anti LO	8	16	5	16,6	7	18,4

systémové autoprotilátky – autoprotilátky proti buněčným jádrům, proti mitochondriím, proti hladkému a příčně pruhovanému svalu, anti NI-NIII – autoprotilátky proti kůře nadledvin: NI – zona glomerulosa, NII – zona fasciculata, NIII – zona reticularis, anti NIV – autoprotilátky proti dřeni nadledvin, anti GPCAb – autoprotilátky proti parietálním buňkám žaludku, anti-LO – autoprotilátky proti Langerhansovým ostrůvkům

\* statisticky významný rozdíl, p=0,05

**Graf 1.** ACTH/kortizol index**Graf 2.** Frakcionovaný synacthenový test u skupiny I

V hladinách glykémie a ionizovaného vápníku jsme nenašli rozdíl. Skupina C měla statisticky vyšší hladinu cholesterolu (p=0,05) oproti skupině A i skupině B.

#### **Funkční rezerva hypothalamo-hypofýzo-nadledvinové osy ve vazbě k únavě**

A. Výsledky hladin kortizolu v minutě 0., 30. a 60. a hladiny ACTH jsou znázorněny v tabulce 3.

Bazální hladiny ACTH byly statisticky významně vyšší u 1. a 2. skupiny v porovnání se 4. skupinou.

Bazální hladiny kortizolu byly statisticky významně nižší u 1. skupiny v porovnání se 3. skupinou.

Hladiny kortizolu ve 30. minutě po aplikaci synacthenu se statisticky nelišily.

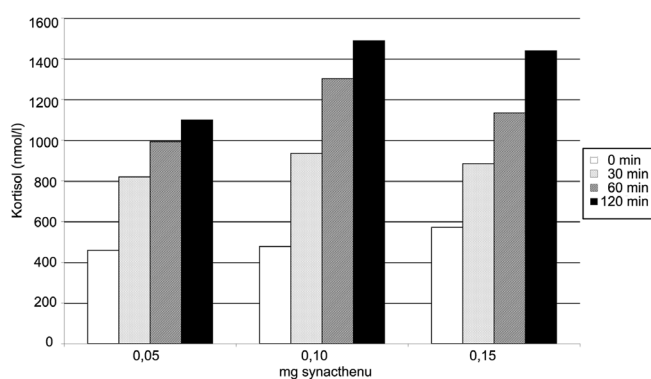
Hladiny kortizolu v 60. minutě po aplikaci synacthenu byly statisticky nižší u 4. skupiny v porovnání se 3. skupinou.

Hodnoty ACTH/kortizol indexu (poměru ACTH (pg/ml)/kortizol (nmol/L)x100) jsou znázorněny v grafu 1. Tento index byl významně vyšší u 1. skupiny oproti 3. a 4. skupině.

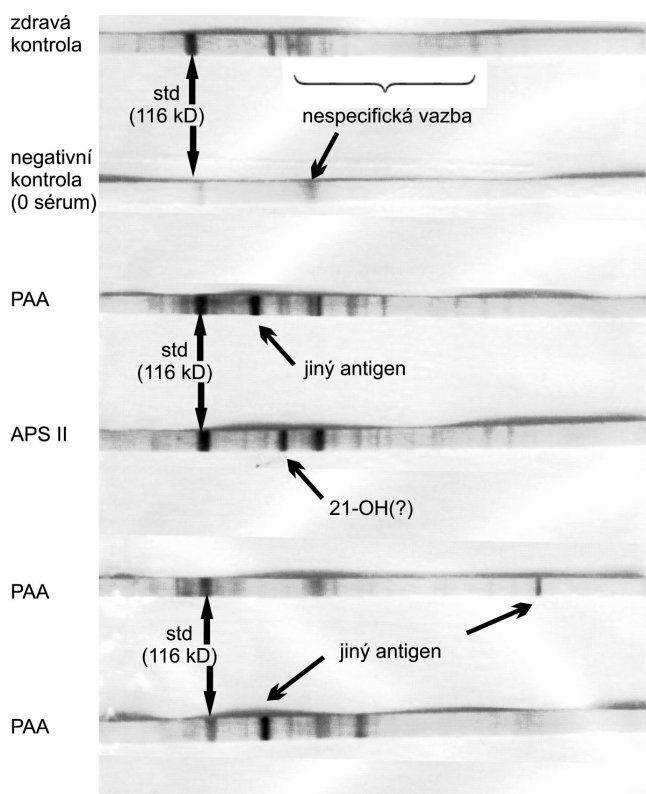
**Tab. 3.** 0,25 mg Synacthenový test

Skupina	počet	ACTH (pg/ml)	kortizol 0. min (nmol/l)	kortizol 30. min (nmol/l)	kortizol 60. min (nmol/l)
1.	24	41,6*	400,2*	789,4	925,0
2.	22	39,3*	458,4	765,0	894,8
3.	12	25,3	536,6*	582,8	1085,6*
4.	11	18,6*	425,3	653,9	717,0*

\*statisticky významný rozdíl, p<0,05



Graf 3. Frakcionovaný synacthenový test u skupiny II



Obr. 1. Detekce autoprotilátek proti nadledvinám pomocí imunoblotu

B. Výsledky frakcionovaného synacthenového testu pro skupinu I. jsou znázorněny v grafu 2 a pro skupinu II. v grafu 3. Mezi skupinami jsme nenalezli statisticky významný rozdíl.

#### Autoprotilátky proti antigenům nadledvin

Pacienti s PAA s autoprotilátkami proti nadledvinám (1. skupina), detekované nepřímou imunofluorescencí, nemají na rozdíl od pacientů s APS II. typu (2. skupina) přítomny autoprotilátky proti 21-hydroxyláze detekované pomocí RIA metody.

Ukázalo se, že autoprotilátky proti nadledvinám u PAA, prokazované pomocí nepřímé imunofluorescence, jsou detekovatelné i pomocí imunoblotu, ale jedná se o protilátky proti jinému antigenu než u APS II, kde je antigenem 21-hydroxyláza (obr. 1).

## DISKUZE

Před 14 lety, kdy jsem začali sledovat v Endokrinologickém ústavu výskyt extratyreoidálních autoprotilátek u autoimunitní tyreoiditidy, byl rozšířený názor, že přítomnost autoprotilátek proti dalším endokrinním orgánům nereprezentuje významný nález, charakterizující poškození dalších endokrinních orgánů, ale že nás to informuje o imunopatologickém stavu, to je o polyklonální aktivaci autoimunity u autoimunitního onemocnění. Tento stav byl popsán prof. T. Fučíkovou před 20 lety jako laboratorní autoimunitní syndrom (13). Vzhledem k tomu, že byl tento stav u autoimunitních tyreoiditid až příliš často vázán na řadu polymorfních obtíží, soustředili jsme se na tuto skupinu a charakterizovali jsme ji jak geneticky (14), tak epigeneticky (15, 16) a snažili jsme se prokázat, že se jedná o samostatnou skupinu endokrinopatií se subklinickými projevy.

Prokázali jsme, že únava v této skupině pacientů zcela jasně neodpovídá v té době velmi prosazovanému „chronickému únavovému syndromu – CFS“, ale že únava a obtížná reakce na stres je vázaná na postižení orgánů s převahou steroidy produkujících buněk subklinickou formou. Na subklinické postižení nadledvin nám poukázaly především bazální hodnoty ACTH a kortizolu u unavených pacientů s autoprotilátkami proti nadledvinám. Přestože byly tyto hodnoty v rozmezí normálu, jejich vzájemný poměr (ACTH/kortizol index) zcela jasně vyčlenil tuto skupinu pacientů, u které do té doby nebyla předpokládána tato subklinická porucha. Z biochemického hlediska je tato skupina ještě charakterizovatelná odlišným poměrem melatoninu k serotoninu.

Významným nálezem, který odlišuje PAA a APS II, se ukázala přítomnost autoprotilátek proti 21-hydroxyláze, která je vázána s rozvojem Addisonovy choroby a je významným laboratorním prognostickým ukazatelem klinického rozvoje APS II. typu (14).

Tedy na základě dlouhodobých sledování pacientů s autoimunitními endokrinopatiemi jsme prokázali, že současný výskyt protilátek proti dalším endokrinním orgánům – PAA není jen náhodný laboratorní výskyt, ale že charakterizuje probíhající autoimunitní proces s poškozením buněk vedoucí k subklinické formě projevu. Domníváme se také, že autoimunitní tyreoiditida při PAA je spíše samostatnou nozologickou jednotkou, odlišnou od izolované autoimunitní tyreoiditidy (15). Pacienti s PAA mají řadu obtíží, mezi které patří únava, kardiovaskulární příznaky, metabolické příznaky, porušená reakce na stres.

#### Zkratky

ACTH	– adrenokortikotropní hormon
APS	– autoimunitní polyglandulární syndrom
BSA	– bovinní sérový albumin
CFS	– chronický únavový syndrom
CRH	– kortikotropní uvolňující hormon
21-OH	– 21-hydroxyláza
GAD	– dekarboxyláza kyseliny glutamové
HDL	– lipoprotein o vysoké denzitě (high density lipoprotein)
IA2	– ostrůvkový antigen 2
PAA	– polyglandulární aktivace autoimunity
PBS	– fosfátem pufovaný fyziologický roztok
RIA	– radioimunoanalýza



## LITERATURA

1. **Muir, A., Schatz, D. A., MacLaren, N. K.:** Polyglandular failure syndromes. In: deGroot, L. J. eds. *Endocrinology*. Philadelphia: 3rd Ed. W. B. Saunders Co, 1994, s. 3013-3022.
2. **Šterzl, I., Vavrejšnová, V., Matucha, P.:** Extratyreoidální autoprotilátky u autoimunitní tyreoiditidy. *Vnitř. Lék.*, 1996, 42, s. 733-737.
3. **Šterzl, I., Fučíková, T., Hrdá, P. et al.:** Únavový syndrom u autoimunitní tyreoiditidy s polyglandulární aktivací autoimunity. *Vnitř. Lék.*, 44, 1998, s. 456-460.
4. **Fučíková, T., Petanová, J.:** Chronický únavový syndrom. *Vnitř. Lék.*, 1993, 39, s. 995-1002.
5. **Laureti, S., de Bellis, A., Muccitelli, V. I., et al.:** Levels of adrenocortical autoantibodies correlate with the degree of adrenal dysfunction in subjects with preclinical Addison's disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998, 83, s. 3507-3511.
6. **Scherbaum, W. A., Berg, P. A.:** Development of adrenocortical failure in non-addisonian patients with autoantibodies to adrenal cortex. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*, 1982, 16, s. 345-352.
7. **Betterle, C., Zanchetta, R., Trevisan, A. et al.:** Complement-fixing adrenal autoantibodies as a marker for predicting onset of idiopathic Addison's disease. *Lancet*, 1983, 1, s. 1238-1240.
8. **Betterle, C., Scalicci, C., Presotto, F. et al.:** The natural history of adrenal function in autoimmune patients with adrenal autoantibodies. *J. Endocrinol.*, 1988, 117, s. 467-475.
9. **Betterle, C., Volpato, M., Rees Smith, B. et al.:** I. Adrenal cortex and steroid 21-hydroxylase autoantibodies in adult patients with organ-specific autoimmune diseases: markers of low progression to clinical Addison's disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997, 82, s. 932-938.
10. **Maclaren, R., Riley, W.:** Inherited susceptibility to autoimmune Addison's disease is linked to human leukocyte antigens DR3 and/or DR4, except when associated with type I autoimmune polyglandular syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1986, 62, s. 455.
11. **Boscaro, M., Betterle, C., Sonino, N. et al.:** Early adrenal hypofunction in patients with organ-specific autoantibodies and no clinical adrenal insufficiency. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1994, 79, s. 452-455.
12. **de Bellis, A., Bizzaro, A., Rossi, R. et al.:** Remission of subclinical adrenocortical failure in subjects with adrenal autoantibodies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1993, 73, s. 1002-1007.
13. **Fučíková, T.:** Autoimunitní laboratorní syndrom. *Čas. Lék. čes.*, 1985, 124, s. 1441-1444.
14. **Hrdá, P., Šterzl, I., Matucha, P. et al.:** Comparison of cytokine levels in sera of patients with autoimmune endocrinopathies. *Physiol. Res.*, 2003, 52, s. 265-267.
15. **Šterzl, I., Hrdá, P., Potužníková, B. et al.:** Autoimmune thyroiditis and *Helicobacter pylori* – is there a connection? *Neur. Endocrinol. Lett.*, 2006, 27 (Suppl. 1).
16. **Šterzl, I., Procházková, J., Hrdá, P. et al.:** Removal of dental amalgam decreases anti-TPO and anti-Tg autoantibodies in patients with autoimmune thyroiditis. *Neuro. Endocrinol. Lett.*, 2006, 27 (Suppl. 1).

Práce vznikla díky podpoře VZ MSM 0021620812.

## KNIHY

REVMATOLOGICKÝ  
VÝKLADOVÝ SLOVNÍK

Praha, Grada Publishing, 2006, 276 s., vydání první, formát 165x240 mm, vázané, ISBN 80-247-1614-3.

Hlavní autor a editor prof. MUDr. Jozef Rovenský patří mezi přední československé revmatology a imunology. Je ředitelem Národního ústavu revmatických chorob v Piešťanech, a zpracovávané problematice se věnuje několik desetiletí, a to jak v práci klinické, tak i laboratorní a vědecké.

Cílem vydané publikace je umožnit lékařské veřejnosti pohotovou orientaci v klinice, diagnostice i terapii nemocí pohybového aparátu.

Revmatologický výkladový slovník obsahuje přehled termínů a definic užívaných v klinické revmatologii. Vlastní text je rozdělen do hesel, která jsou abecedně uspořádána.

Definuje a vysvětluje pojmy týkající se vybraných nozologických jednotek ze skupiny onemocnění pohybového aparátu, důležitých laboratorních údajů se zvláštním zřetelem na imunologické parametry, které jsou důležité při nozografickém ohraničení vybraných revmatických nemocí. Uvedeny jsou i všeobecné principy farmakoterapie uvedených chorob, revmatologická problematika a všeobecná hesla z oblasti fyzikální medicíny.

Při tvorbě lexikonu byla zohledněna rovněž skutečnost, že neoddelitelnou součástí prevence a léčby revmatických chorob je rehabilitace. Proto jsou ve slovníku uvedena hesla, charakterizující stručně postupy, jak bránit vzniku funkčních poškození a jejich vývoje do invalidity.

Autorský kolektiv tvořený odborníky zabývajícími se revmatologií, imunologií, osteologií i fyziatrií, umožnil obsáhnout předkládanou problematiku v plné šíři. Slovník je i přes menší rozsah obsahově velmi bohatý. Řada hesel, zejména imuno-

logických, odráží co revmatologii během doby obohatilo, co dala oborům jiným, jak ovlivnila jiné medicínské disciplíny. Dokazuje to, že se jedná o obor perspektivní a dynamický. Podařilo se uměřeně udržet v rovnováze hesla s obsahem teoretickým i ta s výrazně praktickým zaměřením.

Zároveň jsou jednotlivé pojmy popsány stručně, výstižně a srozumitelně. A tak se čtenář, původně hledající vysvětlení určitého problému, s chutí začte do dalších a dalších hesel, která problematiku osvětlují.

**Publikace velmi čtivou formou naplnila beze zbytku přání autorů, umožnit lékařské veřejnosti pohotovou orientaci v klinice, diagnostice i terapii nemocí pohybového aparátu. Zcela jistě přispěje k lepšímu pochopení, rychlejší a správné diagnostice revmatických chorob, a tím i ke zlepšení prognózy těchto chronických onemocnění.**

Marie Valešová  
100 34 Praha 10, Šrobárova 50

## PŮVODNÍ PRÁCE

## Hodnocení výsledků jodové profylaxe v České republice

<sup>1, 2</sup>Zamrazil V., <sup>1</sup>Čeřovská J., <sup>1</sup>Bílek R., <sup>1</sup>Dvořáková M.,  
<sup>1</sup>Němeček J., <sup>1</sup>Vavrejšnová V., <sup>1</sup>Zamrazilová H.

<sup>1</sup>Endokrinologický ústav, Praha

<sup>2</sup>Subkatedra endokrinologie IPVZ, Praha

## ABSTRAKT

**Východisko.** Zdokonalení jodové profylaxe vedlo k odstranění jodového deficitu v České republice. Nevyřešeným problémem zůstává hodnocení zvýšeného přívodu jodu na stav štítné žlázy, zejména na její objem, funkci a autoimunitní postižení. V této práci jsme hodnotili změny jodurie a výše uvedených parametrů v odstupu 5 let u náhodně vybraného vzorku populace ve 3 regionech.

**Metody a výsledky.** Vzorek populace mužů a žen ve věku od 18–65 let (celkem 1716) byl vyšetřen identickou skupinou pracovníků klinicky, sonograficky a laboratorně za použití stejných metodik včetně statistického hodnocení. Byl zjištěn vzestup jodurie, s výrazným posunem do vyšších hodnot u části osob. Změnila se rovněž distribuce kategorií jodurie. Volum štítné žlázy se zmenšil pouze u žen, nikoli u mužů. Ke zmenšení došlo u žen i při vztažení hodnot k tělesnému povrchu. Neprokázali jsme statisticky významné změny tyreotropního hormonu, došlo ke statisticky významnému, ale klinicky pravděpodobně nezávažnému vzestupu volného tyroxinu.

**Závěry.** Opakované epidemiologické vyšetření náhodného vzorku populace ze 3 regionů v odstupu 5 let prokázalo účinnost jodové profylaxe (vzestup jodurie) s tendencí častějšího výskytu nadměrně zvýšené jodurie, zejména u dětí. Zaznamenali jsme snížení volumu štítné žlázy u žen a tendenci k mírnému vzestupu tyreoidální funkce (vzestup volného tyroxinu, nesignifikantní pokles tyreotropního hormonu).

**Klíčová slova:** štítná žláza, jodový deficit, jodurie, volum štítné žlázy, hodnoty tyreotropního hormonu a volného tyroxinu.

## ABSTRACT

*Zamrazil V., Čeřovská J., Bílek R. et al.: Evaluation of Results of Iodine Prophylaxis in Czech Republic*

**Background.** Improvement of system of iodine prophylaxis in Czech Republic resulted in compensation of iodine deficiency. Effects of increased iodine intake on the status of thyroid gland (volume, function, autoimmune disorders) should be determined. The aim of the study was to evaluate those effects in an epidemiological survey.

**Methods and Results.** A randomly selected sample of adult population (18–65 years old) from 3 regions was investigated using the same methods at the interval of 5 years. A significant increase of ioduria was proved with the marked increase of prevalence of high category (over 300 µg of I per 100 mL of urine). Volume of the thyroid gland decreased significantly in women, not in men. No significant changes of TSH were observed, however FT4 level slightly, but significantly increased.

**Conclusions.** Repeated epidemiological survey of the randomly selected sample of adult population in 3 regions verified the effectiveness of improved iodine prophylaxis with not unequivocally positive increase of high (supraphysiological) category of ioduria. Decrease of thyroid volume was proved in women only, a tendency of mild (clinically not important) increase of thyroid function was also observed.

**Key words:** thyroid gland, iodine deficiency, ioduria, thyroid volume, levels of TSH and FT4. Za.

*Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 262–266.*

Jodový deficit zůstává i ve 21. století významným problémem. Podle odhadů WHO žije v současné době v podmínkách nedostatečného přívodu jodu 2,0–2,2 miliard lidí. Česká republika byla v minulosti oblastí s různým stavem jodového deficitu, v některých regionech se vyskytovaly i jeho nejzávažnější formy včetně endemického kretenizmu (1, 2).

Československá republika patřila mezi země s časným řešením jodového deficitu. Na základě rozsáhlého epidemiologického průzkumu (bylo vyšetřeno asi 600 tisíc obyvatel České republiky a asi 300 tisíc obyvatel Slovenské republiky) se začala suplementace jedlé soli jodem (3). Došlo k úpravě patologicky snížené jodurie a u dětí a dospívajících k výraznému ústupu frekvence strumy.

Těmito úspěchy byla negativně ovlivněna další aktivita v řešení jodového deficitu. V 80. letech minulého století se objevily varovné údaje o zhoršení stavu štítné žlázy u nás. Proto byl z iniciativy Endokrinologického ústavu s grantovou podporou IGA MZ a GA ČR zahájen epidemiologický průzkum situace, který prokázal nedostatečný přívod jodu v naší populaci (1, 2). Na základě získaných dat byla ustanovena interdisciplinární komise pro řešení jodového deficitu, která navázala kontakty s organizacemi UNICEF a ICCIDD (International Council for Control of Iodine Deficiency Disorders). Komplexní interdisciplinární přístup vedl ke zlepšení stavu, takže v roce 2004 dosáhla Česká republika kompenzace jodového deficitu podle kritérií WHO/ICCIDD (4–6).

### SOUČASNÝ STAV PROFYLAXE JODOVÉHO DEFICITU

Díky uvedenému interdisciplinárnímu přístupu bylo možno realizovat v rámci činnosti interdisciplinární komise (kteřá je neoficiální a pracuje díky aktivitám jednotlivých členů a podpoře Státního zdravotního ústavu) realizovat následující opatření:

#### *Změny jodace jodlé soli*

Byla změněna státní norma, takže od roku 1994/1995 je k jodaci soli používán místo jodidu stabilnější jodičnan ( $KIO_3$ ) v koncentraci  $27 \pm 7$  mg čistého jodu na 1 kg soli. Současně byla zkvalitněna výroba (kontrola obsahu jodu v soli), balení (neprodyšné obaly) a podmínky skladování (určena expirační doba). V současné době je jodovanou solí zásobováno 90–95 % domácností a 65–80 % výroben potravinářských produktů (výroba uzenin, pečiva, mléčných výrobků atd.).

#### *Zvýšení přívodu jodu u těhotných a kojících žen*

v souladu s doporučeními ICCIDD byla Českou endokrinologickou a Českou pediatrickou společností Jana Evangelisty Purkyně doporučena suplementace jodem (v dávce 100  $\mu$ g denně) všem těhotným a kojícím ženám. Ve skutečnosti jejich značná část užívá polyvitamino–minerální směsi, které obsahují 150  $\mu$ g jodu v jedné tabletce.

#### *Zvýšení konzumace mořských produktů*

Byla zintenzivněna výchova obyvatelstva ke zvýšené spotřebě mořských produktů, které představují hlavní přirozený zdroj jodu. I když roční spotřeby těchto produktů je u nás stále nízká, dochází k jejímu postupnému vzestupu. V současné době však dosud netvoří významnou složku v zásobení jodem.

#### *Mléko a mléčné výrobky jako zdroj jodu*

Při sníženém obsahu jodu v přirozeném prostředí byl u nás obsah jodu v mléce nízký. Vlivem používání různých krmivových směsí (které zpravidla obsahují jod) došlo k různě výraznému vzestupu koncentrace jodu v mléce. To může vyvolávat problémy z hlediska homogenního přívodu jodu v populaci.

#### *Zvýšený obsah jodu v dalších potravinách*

Kromě mléka a mléčných výrobků jsou u nás v současné době zdrojem jodu jodem obohacené potraviny a nápoje, které jsou obvykle označeny zvláštním logem, který uděluje lokální komise pro řešení jodového deficitu. V některých

regionech se může výrazně uplatnit i zvýšené pití minerálních vod s obsahem jodu (např. Vincentka).

#### *Suplementace jodem formou polyvitamino–minerálních směsí*

V současné době se stále zvyšuje užívání těchto směsí, které jsou doporučovány jako účinný prostředek prevence všech možných chorob a zvýšení kvality života. Tyto preparáty obvykle obsahují 150  $\mu$ g jodu v jedné tabletce. Toto množství by nemělo ovlivnit stav štítné žlázy, která není postižena dalšími chorobnými změnami. Při nadbytečném používání může přívod jodu zvýšit na tolik, že nepříznivě působí na 5–10 % populace s autoimunitními tyreopatiemi nebo s tyreoidální autonomií (stav, kdy ložiska ve štítné žláze nereagují na běžné regulační mechanismy, např. na hladinu tyreotropního hormonu hypofýzy – TSH).

### CÍL STUDIE

V letech 1998–2006 byla dosažena dostatečná saturace jodem podle kritérií ICCIDD/WHO. Některé nesystematické údaje svědčily pro to, že přívod jodu se i v tomto období mění, a zcela chyběla data o tom, zda se v této době mění (vlivem změn zásobení jodem nebo vlivem jiných změn) stav štítné žlázy eventuálně další parametry zdravotního stavu populace, které v průběhu epidemiologického průzkumu sledujeme. K posouzení těchto změn byly opakovaně vyšetřeny stejné regiony v odstupe 5 let.

### SOUBOR VYŠETŘENÝCH A POUŽITÉ METODY

V letech 1999–2006 bylo provedeno celkem 6 epidemiologických šetření ve 3 regionech České republiky (bývalé okresy Příbram, Jablonec nad Nisou, Žďár nad Sázavou) tak, aby odstup mezi prvním a druhým vyšetřením byl 5 let. Vzorky populace byly vybrány metodou náhodného výběru z Registru VZP. Vyšetření prováděl stejný soubor pracovníků za použití stejných metod.

V rámci vyšetření byl hodnocen celkový zdravotní stav, stav výživy a eventuálně probíhající léčba dotazníkovou metodou, bylo provedeno klinické interní vyšetření, základní antropometrické vyšetření, hodnocení ultrasonografického nálezu na štítné žláze, kostní denzitometrie sonografickou metodou CUBA a laboratorní vyšetření, které zahrnovalo parametry k hodnocení funkce štítné žlázy (TSH, FT4 – volná frakce tyroxinu), vyšetření tyreoidálních protilátek a základních biochemických parametrů. V uvedené studii předkládáme pouze analýzu funkce štítné žlázy a její velikosti určené sonografickým vyšetřením. Analýza dalších parametrů bude publikována dodatečně.

Metodika vyšetření byla podrobně popsána dříve (7, 8).

Tato práce se týká pouze dospělé populace, výsledky vyšetření dětí a dospívajících jsou předmětem další analýzy.

Charakteristika souboru s ohledem na počet vyšetření žen a mužů a věkového rozložení uvádí tabulka 1.

### VÝSLEDKY

#### *Změny jodurie*

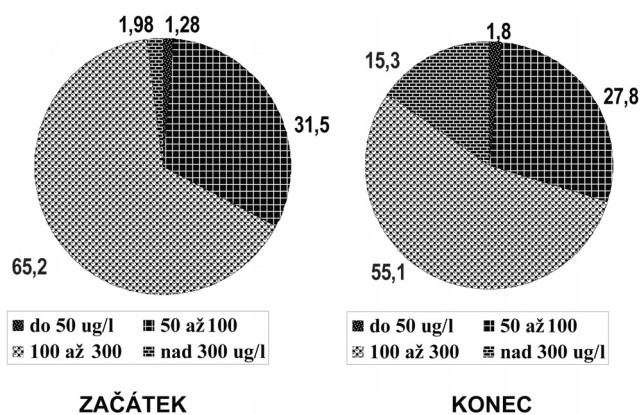
Při srovnání hodnot získaných v odstupe 5 let jsme prokázali statisticky významné zvýšení jodurie (průměr

Tab. 1. Vyšetřené soubory – dospělí

	18–35	36–49	50–65	celkem
JNC1999	115	119	126	360
JNC2004	62	82	112	256
PRI2000	73	91	99	263
PRI2005	87	81	92	260
ZNS2002	76	104	106	286
ZNS2006	79	104	108	291
celkem	492	581	643	1716

Počty vyšetřených osob v jednotlivých regionech:  
JNC – Jablonec nad Nisou, PRI – Příbram, ZNS – Žďár nad Sázavou

z 138,1 na 178,5  $\mu\text{g/l}$ , medián z 112,5 na 119,2  $\mu\text{g/l}$   $P < 0,001$  (tab. 2). Již z poměru změn průměru a mediánu je zřejmé, že došlo k výrazným změnám distribuce. To ukazuje graf 1, na kterém je uvedena distribuce hodnot jodurie od 0 do 600  $\mu\text{g/l}$ . Je z něho zřejmé, že došlo k posunu k vyšším hodnotám, který je rovněž statisticky vysoce



ZAČÁTEK

KONEC

**P=0,000**

Graf 2. Změny v prevalenci kategorií jodurie podle klasifikace WHO u dospělých (n=1644)

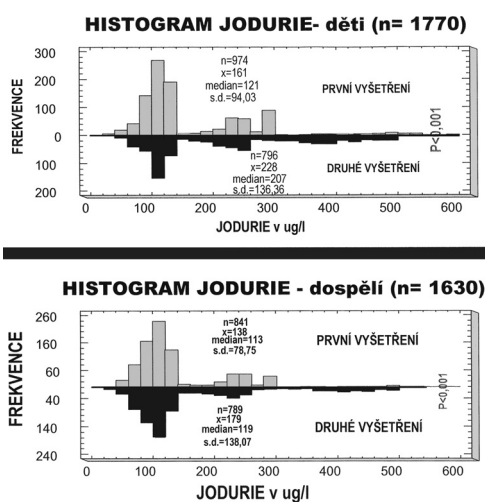
významný ( $P < 0,001$ ). Pro ilustraci jsou na grafu uvedeny i změny distribuce u dětí, které jsou ještě výraznější než u dospělých.

Změny distribuce podle kategorií WHO/ICCIDD uvádí graf 2. Rovněž tyto změny jsou statisticky významné.

Tab. 2. Změny FT4, TSH a jodurie – první a druhé vyšetření dospělí

Parametr	vyšetření	n	průměr	medián	s.d.	s.e.	P
FT4 v pmol/	1.	902	14,94	14,78	2,554	0,084	Anova
	2.	806	15,97	15,79	2,456	0,086	0,000
TSH v mIU/l	1.	901	2,014	1,61	2,356	0,078	Kruskal-Wallis
	2.	804	1,996	1,64	4,316	0,739	NS
jodurie v $\mu\text{g/l}$	1.	860	138,1	112,5	78,49	2,676	Kruskal-Wallis
	2.	789	178,5	119,2	138,07	4,915	0,0000

změny hodnot TSH, FT4 a jodurie



Graf 1. Změny distribuce jodurie (histogram) u dětí a dospělých

Frekvence je uvedena v počtech osob (osa Y) v závislosti na jodurii uvedené v  $\mu\text{g}$  jodu/l moče (osa X).

Tab. 3a. Volum štítné žlázy – první a druhé vyšetření: ženy

Vyšetření	n	průměr	s.e.	P (Kruskal-Wallis)
1.	567	13,4	0,262	0,0011
2.	518	12,0	0,274	

Tab. 3b. Volum štítné žlázy/povrch – první a druhé vyšetření: ženy

Vyšetření	n	průměr	s.e.	P (Kruskal-Wallis)
1.	566	7,62	0,156	0,0002
2.	517	6,79	0,134	

**Tab. 4a.** Volum štítné žlázy – první a druhé vyšetření: muži

Vyšetření	n	průměr	s.e.	P (Kruskal–Wallis)
1.	339	15,9	0,327	NS
2.	283	16,0	0,444	

**Tab. 4b.** Volum štítné žlázy/povrch – první a druhé vyšetření: muži

Vyšetření	n	průměr	s.e.	P (Kruskal–Wallis)
1.	339	7,96	0,159	NS
2.	282	7,96	0,216	

změny volumu štítné žlázy a poměru volumu k tělesnému povrchu u mužů

### Změny volumu štítné žlázy

Byly hodnoceny samostatně pro muže a ženy vzhledem k rozdílu hodnot volumu podle pohlaví. To mělo i vliv na dynamiku změn. Zatímco u žen se jak samotný objem, tak index objem štítné žlázy k tělesnému povrchu statisticky významně zmenšily (tab. 3), u mužů k signifikantním změnám nedošlo (tab. 4).

### Změny funkčních parametrů štítné žlázy

Hodnotili jsme hladinu TSH a FT4. Vzhledem k tomu, že jsme neprokázali statisticky významné rozdíly sledovaných parametrů, mohli jsme soubor mužů a žen spojit. Hodnoty jsou uvedeny v tabulce 2. Zatímco hladina FT4 se statisticky významně snížila ( $P < 0,001$ ), hodnota TSH sice mírně poklesla, ale rozdíl nebyl statisticky významný.

## DISKUZE

Úprava jodopenie je jednou z celosvětových priorit činnosti WHO (9). Při skutečně masovém výskytu nedostatku jodu ve světě je to pochopitelné. Přitom následky tohoto stavu jsou ze zdravotního i celospolečenského hlediska velmi významné a rovněž velmi časté. Důležité je, že úprava tohoto stavu je v principu jednoduchá a vysoce účinná. Jejím základem je zvýšený příjem jodu potravou (výjimečně v málo rozvinutých zemích intramuskulární aplikací jodovaných olejů). Z praktického hlediska je nejvýhodnější suplementovat jodem jedlou sůl. Je to technicky snadné a neohrožuje bezpečí výrazného předávkování (10).

Zvýšený příjem jodu vede v krátké době ke snížení výskytu strumy v dětském věku a v dospívání a odstraní nejtěžší formy jodového deficitu (včetně endemického kretenizmu) u nově narozených dětí. Globálně vzato je jodová profylaxe jedním z neúčinnějších celosvětových preventivních programů (10, 11).

Je však zřejmé, že jako všechna účinná opatření může být spojen s určitými riziky, která jsou regionálně odlišná podle stupně původní jodopenie, podle dávky jodu používaného k suplementaci a nesporně také vlivem řady dalších faktorů, jejichž význam nebyl dosud spolehlivě hodnocen (obsah antityroidálních látek v prostředí, celkový nutriční stav včetně zásobení selenem, rasové vlivy atd.).

V současné době se věnuje pozornost zejména dvěma okruhům vedlejších účinků. Jedná se o:

### Změny funkce štítné žlázy

Po náhlém zvýšení přívodu jodu se popisuje zvýšený výskyt hypertyreózy (tyreotoxikózy) (12–16). Původně se tento nárůst popisoval hlavně u starších osob s polynodózní strumou vzniklou na podkladě jodopenie v dětství a v mládí. Novější zkušenosti z Dánska prokazují zvýšený nárůst především u mladších osob (17). Zvýšený výskyt je přechodný a po několika letech se vrací k původním hodnotám.

### Vznik tyreoidální autoimunity

Vliv zvýšeného přívodu jodu na zvýšený výskyt chronických zánětů štítné žlázy je v současné době hodnocen kontroverzně. Existují doklady o jeho nárůstu (16, 18), jiné práce ho však bezpečně neprokazují (19).

V celkovém hodnocení však podle dostupných údajů převažují příznivé účinky úpravy jodového deficitu, které se v některých ukazatelích projevují bezprostředně (zejména u dětí a dospívajících), jindy až po desetiletích (ústup výskytu polynodózní strumy u starších osob (20)). Hodnocení vlivu zvýšeného přívodu jodu v krátkém časovém intervalu jsou v literatuře vzácná (21, 22). Zaměřili jsme se na hodnocení změn populace přesně definovaných regionů, která byla vybrána a vyšetřena stejnými metodami a stejnou skupinou vyšetřujících osob. Z toho hlediska považujeme získané nálezy při počtu vyšetřených probandů za přínosné.

Jak vyplývá z našich výsledků, zvýšený příjem jodu, na kterém se podílí zlepšení suplementace jodidů soli jodem, ale i zvýšený příjem z dalších zdrojů (mléčné výrobky, další jodované potraviny, podávání jodu v graviditě a používání polyvitamino–minerálních směsí) (17, 23) změnil základní parametr hodnocení jodového deficitu – jodurii. To je jistě nález příznivý. Méně příznivé je však to, že ke změně došlo převážně vlivem nárůstu zvýšených hodnot (nad 300  $\mu\text{g}$  jodu/l). Tento nadměrný příjem může mít negativní dopad na funkci štítné žlázy a na klinickou manifestaci nebo i vznik autoimunitních tyreopatií. Této problematice se v současné době snažíme věnovat.

Zajímavé jsou změny volumu štítné žlázy. Ten je závislý kromě přívodu jodu na celé řadě faktorů. Zásadní význam mají somatické parametry jako výška, váha a tělesný povrch. Částečně z toho vyplývají i pohlavní rozdíly. Ty jsou však dány i řadou dalších faktorů. Je zajímavé, že zvýšená saturace jodem vedla ke statisticky významnému zmenšení volumu pouze u žen, nikoli u mužů. Vysvětlení tohoto nálezu není z našeho epidemiologického průzkumu možné.

Podle očekávání jsme neprokázali klinicky významné změny průměrných hodnot TSH, i když je patrná určitá tendence k jeho poklesu. Hladina FT4 statisticky významně stoupla, z hlediska klinické interpretace tyto změny se nejevily jako relevantní. Celkově však změny hodnot TSH a FT4 jeví určitou tendenci svědčící pro mírné zvýšení funkce štítné žlázy.

## ZÁVĚR

Komplexní úprava suplementace jodem v České republice vedla k vymizení jodopenie podle kritérií WHO. Opakovaná epidemiologická šetření ve 3 regionech České republiky,

provedená v odstupu 5 let, prokázala zvýšení jodurie s tendencí ke zvýraznění nehomogenity její distribuce, snížení volumu štítné žlázy u žen (nikoli u mužů) a klinicky pravděpodobně nevýznamnou tendenci ke zvýšení funkce štítné žlázy. Výsledky svědčí pro nutnost sledování změn stavu populace vlivem změn suplementace jodem. V současné době analyzujeme možné vlivy na výskyt autoimunitních tyreopatií a na celkový vývoj zdravotního stavu populace.

#### Zkratky

- FT4 – volná frakce tyroxinu  
 ICCIDD – International Council for Control of Iodine Deficiency Disorders  
 KIO<sub>3</sub> – jodičnan  
 TSH – tyreotropní hormon hypofýzy  
 WHO – Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)

#### LITERATURA

- Zamrazil, V.:** Současný stav zásobení jodem a jeho důsledky v České republice. Čas. Lék. čes., 1998, 137, s. 611-618.
- Zamrazil, V., Čeřovská, J.:** Jodový deficit a jeho důsledky. Interní medicína pro praxi, 2000, 2, s. 400-414.
- Zamrazil, V.:** Problematika jodového deficitu a jeho následků. Postgrad. Med., 2003, 5, s. 176-179.
- Delange, F., Bürgi, H., Zu Pei Chen, Dunn, J. T.:** World status in iodine deficiency control programs. Thyroid, 2002, 12, s. 915-924.
- Vitti, P., Pinchera, A., Delange, F. et al.:** West and Central Europe Assessers in iodine nutrition IDD. Newsletter, 2002, 18, s. 51-56.
- Zamrazil, V., Bílek, R., Čeřovská, J., Delange, F.:** The elimination of iodine deficiency in Czech Republic. The steps toward success. Thyroid, 2004, 14, s. 49-56.
- Bílek, R., Bednář, J., Zamrazil, V.:** Spectrophotometric determination of urinary iodine by Sandell-Kolthoff reaction subsequent to dry alkaline ashing. Results from the Czech Republic in period 1994–2002. Clin. Chem. Lab. Med., 2005, 43, s. 573-580.
- Čeřovská, J., Bílek, R., Zamrazilová, H. et al.:** Změny zásobení jodem české dospělé populace po eradikaci jodového deficitu a jejich příčiny. Randomizovaná studie dospělé populace dvou regionů České republiky s odstupem 5 let. Vnitř. Lék., 2006, 10, s. 858-863.
- WHO, UNICEF and ICCIDD 2001: Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination. A guide for programme managers. WHO, Geneva, WHO/NHD 01.1 2nd, 1-107.
- Clar, C., Wu, T., Lin, G., Li, P.:** Iodized salt for iodine deficiency disorders. A systematic review. Endocrinol. Metab. Clin. N. Amer., 2002, 31, s. 681-698.
- Dunn, J. T.:** Seven deadly sins in confronting endemic iodine deficiency and how to avoid these. J. Clin. Endocrinol. Metab., 1996, 81, s. 1332-1345.
- Dunn, J. T., Semigram, M. J., Delange, F.:** The prevention and management of iodine – induced hyperthyroidism and its cardiac features. Thyroid, 1998, 8, s. 101-106.
- Hoogendoorn, E. H., Hermus, A. R., de Veigt, F. et al.:** Thyroid function and prevalence of anti-thyroperoxidase antibodies in a population with borderline sufficient iodine intake: influence age and sex. Clin. Chem., 2006, 52, s. 104-111.
- Lind, P., Kummig, G., Heinisch, H. et al.:** Iodine supplementation in Austria. Methods and results. Thyroid, 2002, 12, s. 903-907.
- Mostbeck, A., Galvan, G., Bauer, P. et al.:** The incidence of hyperthyroidism in Austria from 1987–1995 before and after an increase in salt iodization in 1990. Eur. J. Nucl. Med., 1995, 25, s. 367-375.
- Pearce, E. N., Gerber, A. R., Grotrich, D. B. et al.:** Effects of chronic iodine excess in a cohort of long-term American workers in West Africa. J. Clin. Endocrinol. Metab., 2002, 87, s. 5499-5502.
- Pearce, E. N., Pino, S., He, X. et al.:** Sources of dietary iodine: bread, cow's milk, and infant formulae in the Booth Area. J. Clin. Endocrinol. Metab., 2004, 89, s. 3421-3424.
- Kahaly, G. J., Diener, H. P., Beyer, J., Hommel, G.:** Iodine induces thyroid autoimmunity in patients with endemic goitre. Eur. J. Endocrinol., 1998, 3, s. 290-297.
- Zois, C., Stavron, I., Kulogera, C. et al.:** High prevalence of autoimmune thyroiditis in Schoolchildren after elimination of iodine deficiency in Northwestern Greece. Thyroid, 2003, 13, s. 485-489.
- Baltisberger, B., Minder, C. E., Bürgi, H.:** Decrease of incidence of toxic goitre in a region of Switzerland after first correction of mild iodine deficiency EUR. J. Endocrinol., 1995, 132, s. 546-549.
- Hollowell, Y. G., Staehling, N. W., Hannon, W. H.:** Iodine nutrition in the United States. Trends and public health implications: Iodine excretion data from National Health and Nutrition examination Surveys I and III (1971–1974 and 1988–1994). J. Clin. Endocrinol. Metab., 1998, 83, s. 3401-3408.
- Teng, W., Shan, Z., Teng, X. et al.:** Effect of iodine intake on thyroid disease in China. New Engl. J. Med., 2006, 26, s. 2784-2793.
- Beder, N., Möller, U., Leitezer, M. et al.:** Pilot study: Tendency of increasing iodine contents in human milk and cow's milk. Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes., 2005, 113, s. 8-12.

Práce vznikla v rámci řešení grantu NR/7763-3/2004.

## PŮVODNÍ PRÁCE

# Diabetes mellitus dospělých diabetiků 1. typu v závislosti na přítomné autoimunitní tyroiditidě vykazuje imunologické, funkční a klinické odlišnosti

Vondra K., Bendlová B., Šterzl I., Vrbíková J., Zamrazil V.  
Endokrinologický ústav, Praha 1

## ABSTRAKT

**Východisko.** Autoimunitní diabetes je obvykle doprovázen dalšími autoimunitními endokrinopatiemi, nejčastější autoimunitní tyroiditidou (AIT). Není jasné, zda diabetes mellitus u těchto nemocných se odlišuje od diabetes, kde asociace s AIT není přítomná.

**Metody a výsledky.** Jedenáctileté sledování 47 dospělých diabetiků typu 1 (young adults) v závislosti na přítomné AIT (skupina I – pozitivní protilátky proti mikrozomální peroxidáze, antiTPO i proti tyreoglobulinu, antiTgl, skupina II – přítomny pouze antiTPO + , skupina III – bez AIT) prokázalo:

a) zánik vlastní sekrece inzulínu (Cpeptid <0,03 nmol/l) u 100 % nemocných s AIT (ve skupině I mezi 2.–9. rokem, ve skupině II mezi 3.–11. rokem,  $p < 0,05$ ), zatímco ve skupině III bez AIT pouze u 55 % nemocných (I, II vs. III,  $p < 0,001$ );

b) vyšší výskyt hodnot antiGAD > 5 U/ml ve skupině I ve srovnání s nemocnými bez AIT (I vs III,  $p < 0,05$ );

c) tendenci k vyšším dávkám inzulínu potřebným ke kompensaci u diabetiků bez AIT;

d) nejvyšší výskyt orgánově specifických a systémových autoprotilátek ve skupině I s nejvýraznějšími projevy AIT, naopak nejnižší ve skupině III u diabetiků bez AIT (statisticky významné).

**Závěry.** Autoimunitní diabetes mellitus dospělých s AIT ve srovnání s diabetes mellitus vyskytujícím se izolovaně vykazuje odlišnosti v oblasti autoimunity proti Langerhansovým ostrůvkům, ve funkci Langerhansových ostrůvků i v klinickém průběhu.

**Klíčová slova:** diabetes mellitus 1. typu, autoimunitní tyroiditida, antiGAD, antiIA2, funkce Langerhansových ostrůvků, autoimunitní polyglandulární syndromy.

## ABSTRACT

*Vondra K, Bendlová B, Šterzl I. et al: Diabetes Mellitus in Adult Patients with Type 1 Diabetes Shows Immunological, Functional and Clinical Differences Depending on the Presence of Autoimmune Thyroiditis*

**Background.** Autoimmune diabetes is usually accompanied by other autoimmune endocrinopathies, most often by autoimmune thyroiditis (AIT), but it is not clear whether diabetes in these patients differs from diabetes without AIT.

**Methods and Results.** Eleven-year follow-up of 47 young adult Type 1 diabetic patients with respect to the presence of AIT (group I – positive antibodies against microsomal peroxidase, antiTPO, and tyreoglobulin, antiTgl, group II – only positive antiTPO, group III – without AIT) showed:

a) cessation of endogenous insulin secretion (Cpeptide <0.03 nmol/l) in 100 % of patients with AIT (in group I between year 2 and 9, in group II between year 3 and 11,  $p < 0.05$ ), while in group III without AIT only in 55 % of patients (I,II vs. III,  $p < 0.001$ );

b) higher prevalence of antiGAD values > 5 U/ml in group I when compared to patients without AIT (I vs III,  $p < 0.05$ );

c) tendency toward higher doses of insulin needed for diabetes compensation in patients without AIT;

d) the highest prevalence of organ-specific and systemic autoantibodies in group I with the most distinct manifestations of AIT, and the lowest prevalence in group III without AIT (statistically significant).

**Conclusions.** Autoimmune diabetes in adults with AIT compared to diabetes occurring isolated showed differences in the area of autoimmunity against islets of Langerhans, Langerhans islets' function and in the clinical course of the disease.

**Key words:** diabetes mellitus Type 1, autoimmune thyroiditis, antiGAD, antiIA2, Langerhans islets' function, autoimmune polyglandular syndromes. *Vo.*

*Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 267–272.*

V dostupné literatuře dosud chybí podrobnější data o tom, zda častý současný výskyt autoimunitního diabetes mellitus (DM1) a autoimunitní tyreoiditidy (AIT) je spojen s odlišným charakterem diabetes mellitus ve srovnání s nemocnými bez AIT. Více je pouze citovaná zkušenost, prokazující u diabetiček s pozitivním titrem antiTPO horší kompenzaci diabetes mellitus během těhotenství, zejména v II. a III. trimestru a v časném poporodním období (1). Na vyšší výskyt spontánních potratů u diabetiček s Hashimotovskou tyreoiditidou upozorňuje i McCanlies (2). S výjimkou recentní italské studie (3) popisující výraznější aterosklerotické změny na a. carotis u nemocných s DM1 a AIT nebyl u diabetiků prokázán odlišný výskyt chronických diabetických komplikací (retino-, nefro-, neuropatie) (4), resp. dalších komplikací na podkladě diabetické mikro/makroangiopatie (2) v závislosti na přítomné autoimunitní tyreoiditidě. Nejistili jsme ani významnější odlišnosti v klinickém průběhu diabetes mellitus typu LADA s prokázanou AIT (5).

V průběhu 11letého sledování od stanovení diagnózy jsme u mladých dospělých diabetiků typu 1 (young adults) s prokázanou AIT zjistili některé odlišnosti v oblasti autoimunity proti Langerhansovým ostrůvkům, ve funkci Langerhansových ostrůvků, i v klinickém průběhu. Naše zkušenosti zde předkládáme.

## SOUBOR NEMOCNÝCH A POUŽITÉ METODY

Sledovaný soubor tvoří 47 diabetiků I. typu, u nichž se diabetes mellitus manifestoval mezi 18.–35. rokem a kteří od stanovení diagnózy DM1 zůstali v pravidelném sledování v Endokrinologickém ústavu, Praha.

Základní charakteristiky nemocných v době diagnózy DM1 jsou uvedeny v tabulce 1.

**Tab. 1.** Základní charakteristiky souboru v době diagnózy DM1 průměr (SD)

Soubor n	muži:ženy	věk při dg DM1 (roky)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	symptomatické období (týdny)
47	25:22	25,6 (5,9)	22,4 (1,7)	5,9 (7,6)

### Diabetologické kontroly

Byly prováděny pravidelně v 6–8týdenních intervalech, při zhoršení stavu častěji. Pro hodnocení dlouhodobé kompenzace glukózy homeostázy byl používán glykosylovaný hemoglobin A1c frakce (Abbott IMx Glycated Haemoglobin test, vnitřní norma do 7 %). Reziduální sekreci inzulínu jsme sledovali dle bazálních a stimulovaných (1 mg glukagonu i. v.) hodnot C-peptidu (do roku 1996 metodou RIA fy Immunotech, od roku 1996 metodou IRMA. Korelační koeficient paralelních stanovení stejných vzorků byl 0,981, normální hodnoty u obou metod stejné: 0,3–0,9 nmol/l). Pro účely této studie jsme považovali hodnotu C-peptidu <0,03 nmol/l za klinicky nevýznamnou vlastní sekreci.

V 10. roce od manifestace DM1 jsme stanovili antiGAD radioimunologickým kitem fy CIS (Francie, pozitivní hodnoty >1,0 U/ml) a anti-IA2 (Brahms, pozitivní hodnoty >1,3 U/ml).

### Průběh diabetes mellitus

V jednotlivých skupinách je charakterizován vybranými klinickými a laboratorními daty, jako je délka symptomatického období před stanovením diagnózy DM1, váhový úbytek v tomto období, body mass index (BMI) a věk v době diagnózy, začátek a trvání remise, průměrná kompenzace glukózy homeostázy během sledování (vyjádřená jako průměr všech naměřených hodnot glykosylovaného Hb), průměrná dávka inzulínu vyjádřená jako počet jednotek inzulínu na kg hmotnosti a den (U/kg/24 hodin) v 1. a 11. roce sledování, výskyt antiGAD a anti-IA2 v 10. roce sledování, počet nemocných s nevýznamnou vlastní sekrecí inzulínu (C-peptid nalačno <0,03 nmol/l) v jednotlivých letech 11letého sledování.

### Tyroidální autoimunita

Byla detekována a dále sledována:

- pomocí specifických protilátek proti tyreoidální (mikrozomální) peroxidáze (antiTPO) a proti tyreoglobulinu (antiTgl);
- sonografickým vyšetřením štítné žlázy 7,5 MHz sondou;
- v nutných případech byla provedena i FNAB (Fine Needle Aspiration Biopsy).

### Funkce štítné žlázy

Byla hodnocena podle hladin tyreoidálních hormonů a tyreotropního hormonu hypofýzy (TSH). V předložené studii uvádíme pouze hodnoty TSH.

Metodické podrobnosti týkající se stanovení tyreoidálních auto-proti látek a hormonů byly uvedeny dříve (6).

### Orgánově specifické a systémové autoprotilátky

Orgánově specifické a systémové autoprotilátky proti nadledvím, proti gastroparietálním buňkám (GPcAb), proti buněčným jádrům (ANA), proti mitochondriím (AMA), proti hladkému svalu (ASMA) a proti příčně pruhovanému svalu (SMA) byly vyšetřovány opakovaně 1–2x za rok pomocí nepřímé imunofluorescence (blíže 7). Uvedené výsledky představují jejich kumulativní incidence zjištěnou v průběhu 11letého sledování.

Abychom se mohli vyjádřit k otázce, zda se diabetes mellitus u nemocných s AIT odlišuje od nemocných, u kterých AIT nebyla prokázána, rozdělili jsme sledovaný soubor do tří skupin:

*skupina I:* s opakovanou (perzistentní nebo intermitentní) pozitivitou obou vyšetřovaných protilátek proti štítné žláze (antiTPO, antiTgl);

*skupina II:* s opakovanou (perzistentní nebo intermitentní pozitivitou) antiTPO, vyšetření antiTgl bylo opakovaně negativní;

*skupina III:* Do této skupiny byli zařazeni nemocní, u kterých T-Ab byly zachyceny jen tranzitorně v klinicky nevýznamných titrech anebo nebyly zachyceny vůbec ani při opakovaném vyšetření.

### Statistické hodnocení

Bylo provedeno pomocí  $\chi^2$ -kvadrát testu, Fisherova přesného testu ve čtyřpolních tabulkách, Kruskalova–Wallisova testu (ANOVA) a Mannova–Whitneyova neparаметrického testu pro kvantitativní údaje. Při výpočtu kumulativních křivek zániku vlastní sekrece inzulínu v jednotlivých letech sledování byla použita metoda Kaplan–Meiera. Mantelův–Coxův test byl použit pro porovnání těchto křivek mezi sledovanými skupinami. Statistické hodnocení bylo provedeno dr. J. Skibovou ze Statistického oddělení IKEM, Praha.

## VÝSLEDKY

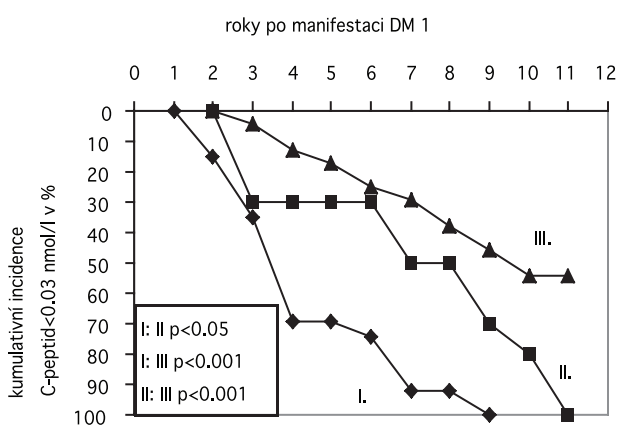
Tabulka 2 shrnuje vybrané anamnestické a klinicko-laboratorní ukazatele charakterizující období manifestace diabetes



Tab. 2. Vybraná data z období manifestace a dalšího průběhu diabetes mellitus u nemocných s a bez AIT

Data charakterizující diabetes mellitus v jednotlivých skupinách		I (antiTPO, antiTgl)	skupina II (antiTPO)	III (T-Ab negat.)	statistické hodnocení
počet		13	10	24	
věk diagnózy (roky)		25,6 (7,1)	25,4 (5,1)	25,7 (5,8)	NS
symptomatické období (týdny)		5,5 (7,5)	5,0 (6,7)	6,7 (8,5)	NS
pokles hmotnosti v symptomatickém období (%)		8,8 (6,2)	11,0 (7,2)	11,5 (6,2)	NS
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	1. rok	22,5 (1,26)	21,7 (1,60)	22,7 (2,01)	NS
	11. rok	23,3 (2,28)	22,3 (1,92)	24,1 (2,79)	NS
dávka inzulínu (U/kg/den)	1 rok	0,32 (0,19)	0,38 (0,16)	0,46 (0,21)	NS
	11. rok	0,67 (0,22)	0,64 (0,33)	0,83 (0,26)	NS
C-peptid 0' (nmol/l)	1. rok	0,29 (0,13)	0,26 (0,18)	0,24 (0,16)	NS
vzestup C-peptidu v 6' po 1 mg glukagonu, v %	1 rok	46,2 (31,2)	92,3 (51,6)	86,1 (62,3)	I:II, I:III p<0,015
remise: výskyt (v % začátek (týdny) trvání (týdny))		71 7,2 (5,0) 74 (39)	62 24 (26) 91 (146)	47 10,5 (9,8) 68 (49)	NS NS NS
glykosylovaný Hb (%)		8,4 (0,97)	8,9 (1,25)	9,5 (1,89)	NS

Uvedeny průměrné hodnoty a směrodatné odchylky x (SD).



**Graf 1.** Kumulativní incidence nových záchytů zániku vlastní sekrece inzulínu (C-peptid <0,03 nmol/l) v % v jednotlivých letech po manifestaci DM

skupina I – pozitivní protilátky proti mikrozomální peroxidáze, antiTPO i proti tyreoglobulinu, antiTgl  
skupina II – přítomny pouze antiTPO+  
skupina III – bez AIT

mellitus a jeho další průběh. Jediným statisticky významným rozdílem, který jsme prokázali mezi diabetiky s AIT (skupiny I, II) a bez AIT (skupina III.), byl nižší vzestup C-peptidu v 6. minutě glukagonového testu v 1. roce u diabetiků ze skupiny I (I:II, I:III, p<0,5). U žádného z dalších uvedených parametrů jsme již neprokázali statisticky významné rozdíly. Na hranici signifikance zůstala vyšší dávka inzulínu potřebná ke kompenzaci diabetes mellitus u nemocných bez prokázané AIT, a to jak v 1. roce, tak v 11. roce po stanovení diagnózy DM1.

Graf 1 znázorňuje formou kumulativní incidence pokles reziduální sekrece inzulínu do klinicky nevýznamného pásma (bazální hladina C-peptidu <0,03 nmol/l) v jednotlivých letech sledování. U nemocných s AIT (skupiny I. a II.) zanikla vlastní sekrece během 11 let od manifestace DM1 u všech nemocných, ve skupině I mezi 2.–9. rokem, ve druhé skupině mezi 3.–11. rokem (p<0,05). Ve skupině III. bez prokázané AIT jsme zjistili pokles C-peptidu <0,03 nmol/l během 11 let u 55 % nemocných, rozdíl oproti skupinám I a II je vysoce významný (p<0,001)

Tabulka 3 ukazuje výskyt a hodnoty antiGAD a anti-IA2 v 10. roce sledování. Hodnoty antiGAD >5 U/ml byly významně častěji zjišťovány u nemocných ve skupině I (antiTPO+, antiTgl+) ve srovnání s nemocnými bez projevů AIT ze skupiny III (p<0,05). Rozdíly ve výskytu antiGAD u nemocných ze skupiny I a II, resp. II. a III. nedosáhly statistické významnosti. V první skupině s nejnápadnějšími projevy AIT byly zjišťovány i nejvyšší hladiny antiGAD, v důsledku příliš velkého rozptylu hodnot rozdíly mezi skupinami však nedosáhly statistické významnosti.

Počet nemocných s prokázanou pozitivitou anti-IA2 byl ve skupinách s AIT vyšší (38,5 %, resp. 40 %) ve srovnání s nemocnými bez AIT (21 %), ale rozdíl nedosáhl statistické signifikance. Hladiny anti-IA2 u diabetiků s AIT v porovnání s diabetiky bez ní se statisticky významně rovněž neodlišovaly.

Tabulka 4 porovnává u nemocných bez AIT (skupina III) výskyt pozitivních hodnot antiGAD a anti-IA2 a jejich hladin v závislosti na reziduální sekreci inzulínu. Zatímco počet pozitivních nálezů antiGAD a jejich hladiny nebyly sekrecí inzulínu významněji ovlivněny, pozitivita anti-IA2 byla vázána pouze na nemocné se zachovanou vlastní sekrecí

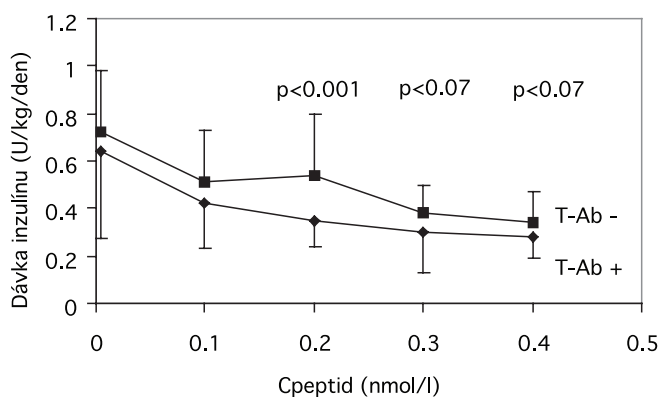
**Tab. 3.** Hodnoty antiGAD a antiIA2 v 10.roce sledování u jednotlivých skupin

AntiGAD (CIS) a anti-IA2 (Brahms) v jednotliv. skupinách	I (antiTPO, antiTgl)	II (antiTPO)	III (T-Ab negat.)	p<
anti GAD >5 U/ml	85 %	60 %	42 %	I:III p<0,05
anti GAD U/ml median (rozsah)	30,7 (5,2–160,0)	17,5 (5,1–92,0)	12,5 (5,2–63,8)	NS
anti-IA2 >1,3 U/ml	38,5 %	40 %	21 %	NS
anti-IA2 U/ml medián (rozsah)	6,7 (2,1–38,9)	9,3 (2,95–8,52)	4,6 (1,85–3,96)	NS

skupina I – pozitivní protilátky proti mikrozomální peroxidáze, antiTPO i proti tyreoglobulinu, anti-Tgl  
skupina II – pouze antiTPO+  
skupina III – bez AIT

**Tab. 4.** Hodnoty antiGAD a anti-IA2 ve skupině bez autoimunitní tyreoiditidy v závislosti na přítomnosti sekrece C-peptidu

Anti GAD (CIS) a anti-IA2 (Brahms) ve III. skupině v závislosti na sekreci C-peptidu	peptid + n=11	C-peptid – n=13	statistické hodnocení
antiGAD >5 U/ml	46 % (5x)	38 % (5x)	NS
antiGAD U/ml průměr (SD)	6,2 (15)	8,7 (21)	NS
anti-IA2 >1,3 U/ml	46 % (5x)	0 %	p<0,01
anti-IA2 U/ml průměr (SD)	2,91 (1,51)	0,28 (0,13)	p<0,05



**Graf 2.** Průměrná dávka inzulínu (U/kg/den) u nemocných s a bez AIT v závislosti na sekreci C-peptidu  
T-Ab – protilátky proti štítné žláze

**Tab. 5.** Kumulativní incidence (%) orgánově specifických a systémových autoantitěl u nemocných s / bez AIT v průběhu 11letého sledování

Skupina	I (antiTPO, antiTgl)	II (antiTPO)	III (T-Ab negat.)	statistické hodnocení
GpcAb	54	50	17	I:III p<0,05 II:III p<0,05
ANA	100	50	21	I:II p<0,05 I:III p<0,001
AMA	46	30	13	I:III p<0,5
SMA	46	0	4	I:II p<0,01 I:III p<0,01
ASMA	62	30	4	I:III p<0,01
protilátky proti nadledvinám	31	0	8	NS
kumulativní výskyt 3 a více protilátek	54	30	4	I:III p<0,01 II:III NS (p<0,07)

GPcAb – protilátky proti gastroperietálním buňkám, ANA – protilátky proti buněčným jádrům, AMA – protilátky proti mitochondriím, ASMA – protilátky proti hladkému svaly, SMA – protilátky proti příčně pruhovanému svaly

inzulínu. Všichni diabetici s hodnotou C-peptidu  $<0,03$  nmol/l byli anti-IA2 negativní ( $p<0,001$ ).

Graf 2 srovnává průměrné dávky inzulínu (U/kg/den) u nemocných s AIT a bez AIT v závislosti na reziduální sekreci inzulínu (hodnoceno podle bazální hodnoty C-peptidu). Je zřejmé, že dávky inzulínu potřebné ke kompenzaci diabetes mellitus u nemocných bez prokázané AIT byli při porovnání s dávkami inzulínu u nemocných s AIT vždy vyšší. Při hodnotách C-peptidu 0,4, 0,3 a 0,1 nmol/l byl rozdíl nevýznamný, resp. na hranicích významnosti ( $p<0,07$ ), při hodnotě C-peptidu 0,2 nmol/l dosáhl rozdíl statistické významnosti ( $p<0,001$ ).

Tabulka 5 srovnává výskyt některých dalších orgánově specifických a systémových autoprotilátek v jednotlivých skupinách. Ukázalo se, že nejvyšší výskyt byl ve skupině I u nemocných s nejvýraznějšími projevy AIT. Naopak nejnižší výskyt byl zaznamenán u diabetiků bez AIT ve skupině III.

## DISKUZE

Ve shodě s literárními zkušenostmi (8) se **údaje** z období **před diagnózou** (pokles hmotnosti a délka symptomatického údobí), i z **časného období po manifestaci DM** (rozvoj remise, její začátek a trvání, věk manifestace DM, BMI) významněji **nelišily u nemocných s AIT ve srovnání s nemocnými bez AIT**. Jediným statisticky významným rozdílem byla snížená odpověď C-peptidu v 6' glukagonovém testu za 12 měsíců od manifestace DM u diabetiků s výraznými projevy AIT (skupina I). Při prospektivním sledování reziduální sekrece inzulínu pomocí C-peptidu se ukázaly další rozdíly: u všech diabetiků s přítomnou AIT došlo k zániku vlastní sekrece inzulínu (C-peptid  $<0,03$  nmol/l) mezi 2.–11. rokem od manifestace DM, zatímco ve skupině bez AIT jen u 55 % nemocných. To ukazovalo na možné rozdíly v charakteru Langerhansovy ostrůvkové autoimunity mezi diabetiky s AIT a bez AIT. Vyšetření markerů Langerhansovy ostrůvkové autoimunity, to je protilátek proti dekarboxyláze kyseliny glutamové (antiGAD) a tyrozin fosfatáze (anti-IA2) prokázalo oprávněnost těchto úvah. Přestože u všech nemocných s AIT byla v 10. roce vlastní sekrece inzulínu neměřitelná, byl u těchto nemocných prokázán signifikantně vyšší výskyt antiGAD i jeho vyšší hladiny ve srovnání s nemocnými, u kterých AIT nebyla prokázána. Další analýza ukázala, že poměr pozitivních/negativních antiGAD nálezů ani jejich hladiny u nemocných bez AIT (skupina III) nebyly ovlivněny vlastní sekrecí inzulínu. Tyto nálezy odpovídají závěrům prací, které zjišťují vztah mezi perzistencí antiGAD a přítomností tyroidální autoimunity (9, 10) a nikoli sekrecí Langerhansových ostrůvků (11). V souladu s výsledky některých autorů (12) je i naše pozorování, že výraznější projevy AIT ve skupině I (antiTPO+, antiTgl +, USG obraz difúzní hypoechogenity, rychlý vývoj subklinické hypothyreózy (blíže 6, 13) jsou asociované s větší intenzitou antiGAD reakce.

Rovněž pozitivita anti-IA2 byla u našich nemocných výrazněji vázána na přítomnost AIT; tento trend ale nedosáhl statistické významnosti. Obdobné pozorování publikoval Maugeudre et al. (10).

Diskuzi vyžaduje zjišťovaná vyšší potřeba inzulínu u diabetiků bez AIT potřebná k dosažení stejné kompenzace diabetes mellitus jako ve skupinách s přítomnou AIT. Tato tendence k vyšším dávkám inzulínu byla pozorována v časném období po manifestaci DM (1. rok) i při dlouhodobém trvání diabetes mellitus (11. rok). Prosazovala se při stejné nebo dokonce vyšší úrovni reziduální sekrece. Běžně souvisí vyšší potřeba inzulínu s vyšší hmotností, u našich diabetiků se BMI ani v 1. roce, ani v 11. roce v závislosti na přítomnosti/nepřítomnosti AIT prakticky nelišil. Teoreticky je možné uvažovat o vyšším stupni inzulínové rezistence, literární údaje ale nejsou k dispozici. Na druhou stranu je nutné vzít v úvahu nález protilátek proti nadledvinám cca u 30 % pacientů ze skupiny I, tedy diabetiků s nejméně výraznějšími projevy AIT. Mohlo by jít o subklinickou formu adrenokortikální insuficience s následně nižší spotřebou inzulínu. Tyto vztahy jistě zaslouží další systematické pozornosti.

Vysoký výskyt dalších orgánově specifických a systémových autoprotilátek u diabetiků s prokázanou AIT, zvláště ve skupině I (charakterizovanou výraznými projevy AIT, ale i projevy Langerhansovy ostrůvkové autoimunity) podtrhuje možnost polyklonální aktivace autoimunitního procesu a otevírá otázku, do jaké míry jsou tyto humorální projevy klinicky relevantní.

Na základě výsledků našeho sledování lze závěrem konstatovat, že autoimunitní diabetes mellitus dospělých asociovaný s AIT v rámci autoimunitního polyglandulárního syndromu vykazuje ve srovnání s diabetes mellitus vyskytující se izolovaně odlišnosti v oblasti autoimunity proti Langerhansovým ostrůvkům, ve funkci Langerhansových ostrůvků i v klinickém průběhu.

## Zkratky

AIT	– autoimunitní tyroiditida
AMA	– protilátky proti mitochondriím
ANA	– protilátky proti buněčným jádrům
antiGAD	– protilátka proti dekarboxyláze kyseliny glutamové
anti-IA2	– protilátka proti tyrozin fosfatáze
ASMA	– protilátky proti hladkému svalu
BMI	– body mass index
DM1	– diabetes mellitus 1. typu (tzv. autoimunitní)
FNAB	– fine needle aspiration biopsy
GPcAb	– protilátky proti gastroparietálním buňkám
Hb	– hemoglobin
SMA	– protilátky proti příčně pruhovanému svalu
Tgl	– tyreoglobulin
TSH	– tyreotropní hormon hypofýzy

## LITERATURA

1. **Fernandez-Soto, L., Gonzales, A., Lobon, J. A. et al.:** Thyroid peroxidase autoantibodies predict poor metabolic control and need for thyroid treatment in pregnant IDDM women. *Diabetes Care*, 1997, 20, s. 1524-1528.
2. **McCanlies, E., O'Leary, L.A., Foley, T. et al.:** Hashimoto's thyroiditis and insulin-dependent diabetes mellitus: Differences among individuals with and without abnormal thyroid function. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998, 83, s. 1548-1551.

3. **Acquati, S., Gagliardi, L., Vacirca, A. et al.:** Cardiovascular risk in patients affected by type 1 diabetes and autoimmune thyroid disease. Abstract Volume of the 41st Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, 2005, A 408.
4. **De Block, C., De Leeuw, I.:** Thyroid autoimmunity does not influence the presence of chronic complications in type 1 diabetic patients. Abstract Book of the 5<sup>th</sup> European Congress of Endocrinology, Torino 2001.
5. **Matějková-Běhanová, M., Zamrazil, V., Vondra, K. et al.:** The influence of co-existing autoimmune thyroiditis in the clinical presentation of diabetes mellitus type 1 in elderly. J. Endocrinol. Invest., 2001, 24, s. 82.
6. **Vondra, K., Vrbíková, J., Šterzl, I. et al.:** Thyroid autoantibodies and their clinical relevance in young adults with Type-1 diabetes during the first 12- years after DM1 onset. J. Endocrinol. Invest., 2004, 27, s. 728-732.
7. **Šterzl, I., Vavrejšnová, V., Matucha, P.:** Extratyreoidální autoprotilátky u autoimunitní tyreoiditidy. Vnitř. Lék., 1996, 42, s. 733-737.
8. **Fernandez-Castañer, M., Molina, A., Lopez-Jimenez, L. et al.:** Clinical presentation and early course of type 1 diabetes in patients with and without thyroid autoimmunity. Diabetes Care, 1999, 22, s. 377-381.
9. **Kawasaki, E., Takino, H., Yano, M. et al.:** Autoantibodies to glutamic acid decarboxylase in patients with IDDM and autoimmune thyroid disease. Diabetes, 1994, 43, s. 80-86.
10. **Maugendre, D., Sonet, E., Derrien, C. et al.:** Combined analysis of long-term anti-beta-cell humoral reactivity in type 1 diabetes with and without thyroid disease. Diabetes Metabolism, 1999, 25, s. 28-33.
11. **Jaeger, C., Allendorfer, J., Hatziagelaki, E. et al.:** Persistent GAD 65 antibodies on longstanding IDDM are not associated with residual beta-cell function, neuropathy or HLA-DR status. Horm. Metab. Res., 1997, 29, s. 510-515.
12. **Yokota, I., Matsuda, J., Naito, E. et al.:** Comparison of GAD and ICA512/IA-2 antibodies at and after the onset of IDDM. Diabetes Care, 1998, 21, s. 49-52.
13. **Vondra, K., Vrbíková, J., Šterzl, I.:** Tyroidální autoimunita u dospělých diabetiků 1. typu. Vlastní zkušenosti z 11letého sledování. Vnitř. Lék., 2006, 52, s. 864-872.

Podporováno grantem IGA NR/9154-3.

## POŽADAVEK NTS A TISKÁRNÝ PRO DODÁVÁNÍ PODKLADŮ DO TISKU

**Příspěvky dodané v kvalitní formě** lze dodávat tiskárně na elektronických médiích. Nakladatelské a tiskové středisko (NTS) přijímá rukopisy pouze v textovém editoru WORD pro Windows (W7/WIN98 nebo novější verze). Příspěvky musí být napsány formou tzv. hladké sazby: bez zarážek, odrážek, tvrdých konců řádek (s výjimkou oddělení odstavců), podtrhávání, změn velikosti písma, formátování (na střed, pomocí tabulátorů), automatického číslování odstavců (např. u citací v literatuře nutno číslice vypisovat) a veškerých grafických experimentů, které moderní tiskový editor umožňuje. **Veškerá přednastavení je nutno zrušit.** Každý elektronicky dodaný příspěvek musí být zároveň dodán i v tištěné formě ve dvojnásobném vyhotovení. Papírový a elektronický text musí být identický, na disketě smí být jen definitivní verze zasílané práce.

Disketa musí být popsána názvem souboru (text také), prosta virů a ochráněna proti náhodnému smazání. Pojmenování souborů vychází ze jména autora. V názvu souboru nelze používat háčky a čárky.

**Elektronickou obrazovou dokumentaci** [tj. grafy, fotografie (i barevné), výstupy z přístrojů] NTS přijímá pro přímé tiskárenské zpracování, a to ve formátech .tif a .eps, přičemž možná média jsou kromě disket 3,5" také CD-ROM, zip 100 MB, jaz.

Grafy musí být zpracovány pro jednobarevný tisk, veškerá dokumentace musí být zaslána i v papírové podobě (mohou být dodány i v .ai, .cdr, i .xls v křivkách).

Pokud jsou obrázky ve formátu .jpg, je třeba užít velkého rozlišení (nejlepší kompresní poměr) z důvodů kvality.

Skenování barevných obrázků vyžaduje minimálně rozlišení 300 dpi v požadovaném tiskovém rozměru.

V komplikovaných případech lze autorům vyjednat kontakt přímo s tiskárnou.

Časopisy jsou zpracovávány technologií CTP (výstup z počítače v kompozitním .pdf formátu je ripován přímo na ofsetové desky).

Dodržením uvedených pravidel zjednodušíte předtiskovou přípravu svých příspěvků a zajistíte jeho kvalitnější reprodukci.

## PŮVODNÍ PRÁCE

## Endokrinní orbitopatie a význam autoprotilátek proti 1D proteinu

<sup>1, 3</sup>Hrdá P., <sup>1, 3</sup>Šterzl I., <sup>1</sup>Váňa S., <sup>1</sup>Novák Z., <sup>1</sup>Matucha P., <sup>2</sup>Kromminga A.

<sup>1</sup>Endokrinologický ústav, Praha

<sup>2</sup>Institute for Immunology, Pathology and Molecular Biology (IPM), Hamburg, Německo

<sup>3</sup>Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK a VFN, Praha

### ABSTRAKT

**Východisko.** Endokrinní orbitopatie je chronické oční onemocnění, charakterizované zánětem v parabolárním a retrobulárním prostoru a obvykle se vyskytuje u Gravesovy–Basedowovy tyreotoxikózy. Přestože patogenese onemocnění není doposud zcela objasněná, je akceptováno, že se jedná o autoimunitní onemocnění, kdy cílem autoimunitní reakce jsou antigeny společně sdílené štítnou žlázou a tkání orbity. Pro diagnózu endokrinní orbitopatie jsou vysoce specifické a senzitivní autoprotilátky proti rekombinantnímu 1D proteinu.

**Metody a výsledky.** Cílem práce bylo prokázat, zda jsou autoprotilátky proti 1D proteinu převážně nalézány u pacientů s klinicky vyjádřenou endokrinní orbitopatií. U 30 pacientů s klinicky vyjádřenou endokrinní orbitopatií jsme hodnotili tloušťku tří retrobulárních očních svalů, postižených u endokrinní orbitopatie, stanovovali jsme parametry tyreoidálních hormonů a autoprotilátky proti receptoru tyreotropního hormonu. U všech pacientů jsme detekovali cirkulující autoprotilátky proti rekombinantnímu 1D proteinu. Autoprotilátky proti rekombinantnímu 1D proteinu jsme prokázali u všech pacientů s klinicky vyjádřenou endokrinní orbitopatií.

**Závěry.** Imunoreaktivita nezávisela na délce trvání nebo závažnosti oční choroby ani na věku pacientů. Nenalezli jsme žádnou korelaci mezi tloušťkou očních svalů a titrem autoprotilátek proti receptoru tyreostimulačního hormonu, hladinami tyreostimulačního hormonu a volného tyroxinu a žádnou korelaci mezi tloušťkou očních svalů a dobou trvání nemoci.

**Klíčová slova:** autoprotilátky, endokrinní orbitopatie, Gravesova–Basedowova tyreotoxikóza, oční sval, 1D protein.

### ABSTRACT

*Hrdá P., Šterzl I., Váňa S. et al.: Endocrine Orbitopathy and Significance of Autoantibodies Against 1D Protein*

**Background.** Endocrine ophthalmopathy is a chronic eye disease, characterized by inflammation in parabolbar and retrobulbar space, occurring usually in Graves' thyrotoxicosis. Although the pathogenesis of the disease has not been clarified until now, it is accepted that this disease is of an autoimmune nature, where the targets of the autoimmune reaction are the antigens shared by thyroid and orbit-tissue. The autoantibodies against recombinant 1D protein are highly specific and sensitive for the diagnosis of endocrine orbitopathy.

**Methods and Results.** The aim of our study was to establish, whether the autoantibodies against 1D protein are found predominantly in patients with clinically expressed endocrine orbitopathy. We evaluated in 30 patients with clinically expressed endocrine orbitopathy the thickness of the three retrobulbar eye muscles, damaged by endocrine orbitopathy, determined the parameters of thyroid hormones and anti-TSH receptor autoantibodies. In all patients the detection of circulating autoantibodies against recombinant 1D protein was performed. Autoantibodies against recombinant 1D protein were found in all patients with clinically expressed endocrine orbitopathy.

**Conclusions.** Immunoreactivity did not depend on the duration or severity of the eye disease, neither on patients' age. We did not find any correlation between the thickness of eye muscles and the titre of anti-TSH receptor autoantibodies, levels of ssTSH and free thyroxine and also any correlation between the thickness of eye muscles and the disease duration.

**Key words:** autoantibodies, endocrine ophthalmopathy, Graves' disease, eye muscle, 1D protein. Hr:

*Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 273–277.*

**E**ndokrinní orbitopatie je chronické oční onemocnění, charakterizované zánětem v parabolárním a retrobulárním prostoru, postihující pojivou tkáň, tukovou tkáň a svaly orbity (1). Endokrinní orbitopatie je jednou z klinických manifestací Gravesovy–Basedowovy tyreotoxikózy (GB tyreotoxikózy), klinicky prokázána je téměř u 25–50 % pacientů s GB tyreotoxikózou (2), ale při použití citlivých metod, jako je například ultrasonografie, počítačová tomografie (CT) či magnetická rezonance (MR) nacházíme asymptomatické postižení, zvláště změny na svalech orbity, u většiny nemocných (3). Dále se zřídka vyskytuje u pacientů s Hashimotovou tyreoiditidou (chronickou autoimunitní tyreoiditidou), u Gravesovy–Basedowovy nemoci bez hyperthyreózy a u pacientů bez zjevného tyreoidálního onemocnění a nebo se subklinickou tyreoidální autoimunitou (4–6).

Spektrum očních potíží v rámci endokrinní orbitopatie zahrnuje jemné abnormality až dramatické oční změny (5). Příznaky endokrinní orbitopatie mohou být vysvětleny mechanickým efektem při zvýšení objemu tkání v orbitě. Histologicky je endokrinní orbitopatie charakterizována akumulací glykosaminoglykanů (kyselina hyaluronová, chondroitin sulfát B a chondroitin sulfát C) v orbitě a lymfocytární infiltrací orbity (7).

Patogeneze onemocnění není doposud zcela objasněná. Je obecně akceptováno, že se jedná o autoimunitní onemocnění, kdy cílem autoimunitní reakce jsou antigeny společně sdílené štítnou žlázou a tkání orbity. Podstata autoantigenní vazby mezi štítnou žlázou a orbitou nebyla zatím plně definitivně popsána (8) a sérový marker zcela specifický a spolehlivý pro endokrinní orbitopatii neexistuje.

Jedním potenciaálním antigenem je receptor pro tyreostimulační hormon hypofýzy (TSH) receptor (TSHR). TSHR je tyreoidální autoantigen a stimuluje autoprottilátky proti TSHR se patogeneticky uplatňují při GB tyreotoxikóze. Jeho role ve vývoji endokrinní orbitopatie je stále nejasná. TSHR je exprimován ve štítné žláze a zvýšená exprese TSHR byla popsána u štítných žláz s GB chorobou (9). Orbitální exprese TSHR byla demonstrována v kultuře retrobulárních fibroblastů od pacientů s endokrinní orbitopatií (10) a v orbitální tukové tkáni pacientů s endokrinní orbitopatií, kde exprese TSHR mRNA signifikantně korelovala s objemem orbitálního tuku a závažností orbitopatie (11). Přítomnost TSHR transkriptu byla též zjištěna v zevních očních svalech (12).

Dalším možným společně sdíleným antigenem je 1D protein, klonovaný a charakterizovaný Dongem et al. (13). U tohoto membránově vázaného 64 kDa proteinu, který se skládá z 572 aminokyselin, byla popsána exprese v lidské štítné žláze a v tkáních zevních očních svalů u lidí (13–15). U pacientů s GB tyreotoxikózou byla popsána zvýšená exprese 1D proteinu v porovnání se zdravými kontrolami a pacienti s autonomní tyreotoxikózou. Autoprottilátky proti rekombinantnímu 1D proteinu byly nalezeny až u 82 % pacientů s GB tyreotoxikózou s klinicky vyjádřenou endokrinní orbitopatií a u 56 % pacientů s GB tyreotoxikózou bez klinicky zjevné orbitopatie. Na rozdíl od toho u zdravých kontrol a pacientů s jiným autoimunitním netyreoidálním onemocněním, jako je systémový lupus erythematodes nebo primární biliární cirhóza, byla nalezena pozitivita pouze v 5 % a 10 % případů. U pacientů s jiným onemocněním štítné žlázy než je GB tyreotoxikóza byly autoprottilátky proti 1D proteinu nalezeny u 24–31 % (16).

Další možné popisované společně sdílené antigeny jsou např. G2s protein (17), kolagen typu XIII (18) a tyreoglobulin (19).

Cílem naší práce bylo prokázat, zda jsou autoprottilátky proti 1D proteinu převážně nalézány u pacientů s klinicky vyjádřenou endokrinní orbitopatií. U pacientů s klinicky vyjádřenou endokrinní orbitopatií jsme sonograficky hodnotili tloušťku očních svalů a sledovali jsme autoprottilátky proti TSH receptoru a proti rekombinantnímu 1D proteinu, hladiny ssTSH a volného tyroxinu.

## SOUBOR NEMOCNÝCH A POUŽITÉ METODY

Soubor tvořilo 30 pacientů, kteří byli vyšetřeni v Endokrinologickém ústavu v Praze. Výběrovým kritériem byla přítomnost klinických známek endokrinní orbitopatie, bez ohledu na přítomnost autoprottilátek proti TSHR a bez ohledu na koncentrace ssTSH a fT4. Průměrné trvání nemoci bylo 19 měsíců (rozmezí 1–319 měsíců). Klinická klasifikace závažnosti onemocnění dle Wernera (20) u jednotlivých pacientů je znázorněna v tabulce 1. Poměr žen a mužů byl 27:3 a průměrný věk byl 53 let. Deset pacientů mělo pretibiální dermatitidu.

Tab. 1. Klinická klasifikace očních změn (dle Wernera)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
S	1	1	2	2	1	2	3	1	3	1	1	1	1	1	1	2	1	2	1	2	1	1	2	1	2	2	1	2	3	3
P	0	0	0	1	0	2	1	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2
E	0	0	0	2	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	2	1	2	0	3	0	0	2	0	2	1	2	0	1	0
C	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1
S	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0	1	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0

S – postižení měkkých tkání: 0 není, 1 minimální, 2 mírné, 3 výrazné

P – protruze bulbu: 0 není, 1 nárůst o 3–4 mm nad normál, 2 nárůst 5–7 mm, 3 nárůst 8 a více mm

E – postižení zevních očních svalů: 0 není, 1 omezení pohybu bulbu při extrémním pohledu, 2 zjevné omezení pohybu bulbu, 3 fixace bulbu

C – postižení rohovky: 0 není, 1 infiltrace, 2 ulcerace, 3 nekróza, perforace

S – postižení očního nervu: 0 není, 1 vyblednutí nebo útlak zřetelného nervu, nebo výpadek zorného pole, zraková ostrost 20/20 až 20/60, 2 tytéž příznaky, zraková ostrost 20/70 až 20/200, 3 slepota, zraková ostrost menší než 20/200

Jako kontrolu jsme využili výsledky původně publikované práce autorů Kromminga et al. (16).

#### Sonografické vyšetření

Sonografická vyšetření byla prováděna na přístroji Toshiba 250 a Hewlett-Packard 100 jediným vyšetřujícím, orbity byly vyšetřovány ostře konvexní sondou 7.5 MHz. Byla měřena vzdálenost mezi bulbem a apexem orbity, jednak tloušťky mediálního, laterálního a dolního přímého očního svalu a tloušťky horní svalové skupiny (horní přímý s levátorem víčka), podle námi vypracované arbitrární stupnice byla odhadována i echogenita svalů (I až IV, kde I je normální sval orbity, tedy hluboce hypoechoenní, IV je echogenity tak vysoké, že často je jen obtížně odlišitelný od okolního vaziva). Tloušťka svalu nad 5 mm byla považována za zvýšenou.

#### Tyreoidální parametry

Volný tyroxin (fT4) byl měřen pomocí radioimunoeseje (Immunotech, UK). Normální rozmezí je od 11,5 do 23 pmol/l. Hladina ssTSH byla stanovena pomocí imunoluminiscenční eseje (ILMA, Immunotech, UK). Normální rozmezí je od 0,17 do 4,05 mIU/l.

Hladiny autoprotilátek proti TSH receptoru byly měřeny radio-receptorovou esejí (TRAK Henning, Germany). Normální hodnota je <9 IU/l.

#### Izolace rekombinantního 1D proteinu z Sf21 hmyzích buněk

Rekombinantní hexa-histidinem označený 1D protein odvozený z bakulovirem infikovaných Sf21 hmyzích buněk byl purifikován dle procedury popsané dříve (16). Stručně, rekombinantní 1D protein byl izolován z lyzovaných Sf21 hmyzích buněk 3 dny po infekci rekombinantním bakulovirem. Purifikace byla provedena pomocí chromatografie využívající tvorby chelátů s kovy na Ni/NTA agaróze (Quiagen, Německo) za nenedenaturujících podmínek. Proces purifikace byl kontrolován pomocí SDS-PAGE a imunoblotu. Množství proteinu bylo stanoveno Bradfordovou metodou (BioRad, USA).

#### Imunoblot

Purifikovaný rekombinantní 1D protein byl přenesen na nitrocelulózu po elektroforéze na 14% polyakrylamidovém gelu s dodecylsulfátem sodným (SDS-PAGE) (16). Bloty byly blokovány 1 hodinu v 1% (obj.) Tween-20 v PBS pufru (154 mM NaCl, 20 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7,6). Pro detekci IgG autoprotilátek byla séra 100x zředěna v PBS. Lidská séra byla použita při ředění 1:100, monoklonální anti-RGSHHH protilátka (Quiagen, Německo) při ředění 1:2000 v PBS. Po 12hodinové inkubaci při pokojové teplotě se zředěným sérem byly bloty promyty a inkubovány s králičím proti-lidským IgG (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA, USA) konjugovaným s alkalickou fosfatázou. Jako chromogenní substrát byl použit barvicí systém NBT/BCIP.

#### Purifikace rekombinantního 1D proteinu

Rekombinantní 1D protein byl izolován a purifikován podle procedury popsané dříve (16). Po chromatografii využívající tvorby komplexů s kovy byl aplikován purifikovaný rekombinantní 1D protein na SDS-PAGE a přenesen na nitrocelulózu. Po přenosu z elektroforetického gelu na nitrocelulózu byl rekombinantní 1D protein detekován pomocí monoklonálních protilátek.

## VÝSLEDKY

#### Sonografie

V tabulce 2 jsou uvedeny tloušťky očních svalů u probandů.

**Tab. 2.** Tloušťka očních svalů u pacientů s endokrinní orbitopatií

Pacient	pravé oko			levé oko	
	MRL (mm)	MRM (mm)	MRI (mm)	MRL (mm)	MRM (mm)
1	2,7	3,5	2,8	3,8	3,3
2	3,7	2,8	3,4	5,0	4,3
3	5,0	4,1	5,3	3,1	4,6
4	4,2	4,1	6,7	6,3	7,0
5	3,9	3,1	5,8	4,9	4,1
6	4,7	6,6	8,2	6,9	6,7
7	5,2	7,5	8,7	5,4	6,2
8	3,4	5,4	6,4	4,0	4,6
9	3,3	5,0	5,0	3,7	2,7
10	5,7	5,7	5,0	4,7	6,4
11	8,6	3,9	3,1	3,8	3,9
12	5,7	8,0	9,4	5,3	3,5
13	9,3	6,0	5,9	3,9	7,3
14	3,3	3,7	2,9	3,1	3,8
15	3,2	2,6	5,2	2,9	3,2
16	4,5	6,8	7,3	5,6	8,0
17	3,4	4,8	5,8	4,3	5,7
18	5,9	7,4	7,3	5,5	4,3
19	5,3	4,8	6,2	5,0	4,3
20	3,6	5,2	3,6	3,8	5,6
21	3,1	2,6	3,1	3,1	5,9
22	3,1	4,0	3,7	3,5	4,5
23	9,2	10,2	7,5	9,4	8,5
24	3,6	7,9	6,1	4,0	3,6
25	5,3	6,7	8,4	4,9	6,3
26	5,6	9,6	6,7	3,4	7,7
27	4,4	5,1	8,2	2,8	4,0
28	6,2	8,1	6,8	-	9,3
29	4,8	8,1	9,4	3,9	3,9
30	5,3	8,0	7,8	7,2	6,2

MRL – musculus rectus lateralis, MRM – musculus rectus medius, MRI – musculus rectus inferior

Třicet osm procent až 43 % pacientů s endokrinní orbitopatií mělo větší tloušťku musculus rectus lateralis (MRL), 47–60 % musculus rectus medius (MRM) a 77 % musculus rectus inferior (MRI), což demonstruje, že MRI je oční sval převážně postižený v rámci endokrinní orbitopatie, jak je známo i z klinických pozorování a CT a MR vyšetření.

Rozdíly mezi postižením jednotlivých typů svalů nebyly statisticky významné. Nenalezli jsme korelaci mezi tloušťkou žádného typu očního svalu a titrem autoprotilátek proti TSHR, ani korelaci mezi tloušťkou očních svalů a trváním endokrinní orbitopatie.

#### Tyreoidální parametry

Průměrný titer autoprotilátek proti TSHR byl 17,8 IU/l s rozmezím od 0,9 do 88,9 IU/l. Průměrné hladiny ssTSH byly 0,24 mIU/l s rozmezím od 0,04 do 5,7. Průměrné hladiny fT4 byly 15,88 pmol/l s rozmezím od 3,2 do 24.

#### Imunoreaktivita 1D proteinu

Autoprotilátky proti rekombinantnímu 1D proteinu byly nalezeny u všech pacientů, což demonstruje vysokou senzitivitu eseje. Nenalezli jsme rozdíly v imunoreaktivitě v závislosti na trvání nebo závažnosti orbitopatie ani na věku pacientů.

## DISKUZE

Ukazuje se, že rekombinantní 1D protein je jedním z cílových antigenů autoprotiilátek u endokrinní orbitopatie (13). Jak bylo popsáno dříve (16) autoprotiilátky proti rekombinantnímu 1D proteinu mohou být nalezeny až u 82 % pacientů s GB tyreotoxikózou s klinicky vyjádřenou endokrinní orbitopatií a u 56 % pacientů GB tyreotoxikózou bez klinicky zjevné orbitopatie a pouze u 5–10 % zdravých kontrol a pacientů s jinými autoimunitními chorobami. Mimo to je 1D protein exprimován jak ve štítné žláze, tak ve tkáni očních svalů. Protože je exprese 1D proteinu významně vyšší ve štítné žláze pacientů s GB tyreotoxikózou než ve štítné žláze zdravých kontrol, je možné považovat 1D protein za jednu z možných antigenních vazeb mezi GB tyreotoxikózou a endokrinní orbitopatií.

Vedle 1D proteinu je také jedním z významných cílových antigenů u endokrinní orbitopatie TSHR. Orbitální exprese TSHR byla demonstrována v kultuře retrobulbárních fibroblastů od pacientů s endokrinní orbitopatií (21), v orbitální tukové tkáni pacientů s endokrinní orbitopatií a (22) a přítomnost TSHR transkriptu byla též zjištěna v zevních očních svalech (23). Lze tedy předpokládat, že TSHR je jednou z antigenních vazeb mezi štítnou žlázou a tkání očních svalů (10).

Cílem naší práce bylo prokázat, zda jsou autoprotiilátky proti 1D proteinu převážně nalézány u pacientů s klinicky vyjádřenou endokrinní orbitopatií. Všichni pacienti s endokrinní orbitopatií, zařazení do této studie, byli vybráni na základě klinických příznaků a symptomů bez znalosti výskytu autoprotiilátek. Měřili jsme u nich sonograficky tloušťku očních svalů a tyreoidální parametry. U všech pacientů s klinicky vyjádřenou endokrinní orbitopatií jsme našli vzestup autoprotiilátek proti rekombinantnímu 1D proteinu. Nenalezli jsme korelaci mezi titrem autoprotiilátek proti TSHR a závažností očního postižení.

Prozatím není jasné, zda 1D protein hraje patogenetickou roli nebo zda detekce autoprotiilátek proti 1D proteinu je pouhým epifenomenem. Podle počítačové analýzy se zdá, že 1D protein je membránově vázaný intracelulární protein a je možná jeho fyziologická role v intracelulární signální transdukcii (15). Díky jeho pravděpodobné intracelulární lokalizaci je možné uvažovat, že 1D protein je rozpoznáván autoprotiilátkami po destrukci retrobulbární tkáně. To by však mělo znamenat, že autoprotiilátky proti 1D proteinu by měly být detekovány převážně až po dlouhé době trvání endokrinní orbitopatie, což jsme v našem případě neprokazovali.

Další možným patogenetickým mechanismem je hypotéza o pronikání autoprotiilátek, jak to bylo popsáno u jiných autoimunitních chorob (24).

Pravděpodobná je též představa existence více než jednoho cílového antigenu u endokrinní orbitopatie, jak je popsáno u jiných autoimunitních onemocnění, např. u diabetes melitus 1. typu (25).

Naše výsledky nevedou k představě striktního rozdělení na dva oddělené subtypy endokrinní orbitopatie: kongestivní forma (periorbitální infiltrace, bez diplopie) a myositická forma (diplopie, redukce pohybu očí, vzestup objemu očních svalů), jak navrhuje Wall (26). Na základě naše dlouholetého klinického pozorování (27, 28) jsou oční svaly většinou, ale ne vždy, postiženy. Postižení svalů se může měnit, příznaky a symptomy endokrinní orbitopatie se také mohou měnit

v průběhu času, a to může odrážet zapojení různých antigenů v procesu.

Orbitální prostor je infiltrovaný T-lymfocyty a makrofágy, které uvolňují řadu cytokinů. Kritickou rolí ve vývoji autoimunitních onemocnění může hrát Th1/Th2 paradigma (29). Je možné, že Th1 lymfocyty zprostředkovaná imunitní reakce je více vyjádřená u myositického typu endokrinní orbitopatie, kde se uplatňuje především buněčná cytotoxicita, a Th2 lymfocyty zprostředkovaná imunitní reakce u jiných subtypů, kde se uplatňují především autoprotiilátky proti cílovým receptorům. Bylo popsáno, že cytokiny produkované Th1 lymfocyty jsou predominantní v tkáni očního svalu u většiny pacientů s endokrinní orbitopatií, a to souvisí s poškozením a zvětšením očních svalů. Přesto však ani u velmi pokročilých orbitopatií nedochází nikdy k úplné ztrátě funkce svalů, naopak po letech zklidnění a apoptóze tukových buněk se často spontánně pohyblivost svalů zcela normalizuje. Patology popsaná destrukce svalů a úbytek tkáně bude spíše jen roztlačení vláken glykosaminoglykanů. V tukové tkáni orbity se predominantní cytokinový profil u pacientů liší a cytokiny Th2 lymfocytů negativně korelují s objemem orbity (30).

Závěrem vyplývá, že autoprotiilátky proti rekombinantnímu 1D proteinu jsme našli u všech pacientů s klinicky vyjádřenou endokrinní orbitopatií. Imunoreaktivita nezávisela na délce trvání nebo závažnosti oční choroby ani na věku pacientů. Nenalezli jsme žádnou korelaci mezi tloušťkou očních svalů a titrem autoprotiilátek proti TSHR nebo titrem ssTSH nebo fT4 a žádnou korelaci mezi tloušťkou očních svalů s dobou trvání nemoci.

Ve shodě s předchozí prací (16) se zdá, že autoprotiilátky proti rekombinantnímu 1D proteinu jsou užitečným markerem klinicky vyjádřené endokrinní orbitopatie a mohou pomoci odlišit pacienty s GB tyreotoxikózou s nebo bez orbitopatie od ostatních forem tyreoidálních a/nebo očních onemocnění (např. odlišení od tumorů orbity, zánětlivého pseudotumoru, tumorů optického kanálu, meningeomů a dalších tumorů mozku a plen, jakož i arteriovenózních píštělí a dalších patologických změn této oblasti).

### Zkratky

CT	– počítačová tomografie
GB	– Gravesova–Basedowova
fT4	– volný tyroxin
IgG	– imunoglobulin G
MR	– magnetická rezonance
MRI	– musculus rectus inferior
MRL	– musculus rectus laterialis
MRM	– musculus rectus medius
TSH	– hormon tyreostimulační
TSHR	– receptor pro tyreostimulační hormon

## LITERATURA

1. Heufelder, A. E., Spitzweg, C.: Pathogenesis of immunogenetic hyperthyroidism and endocrine orbitopathy. *Internist*, 1998, 39, s. 599-606.
2. Jacobson, D. I. I., Gorman, C. A.: Clinical review 13: Diagnosis and management of endocrine ophthalmopathy. *Med. Clin. North. Am.*, 1984, 69, s. 973-988.



3. **Noth, D., Gebauer, M., Müller, B. et al.:** Graves' ophthalmopathy natural history and treatment outcomes. *Swiss. Med. Wkly.*, 2001, 131, s. 603-609.
4. **Bahn, R. S., Heufelder, A. E.:** Pathogenesis of Graves' ophthalmopathy. *N. Engl. J. Med.*, 1993, 329, s.1468-1475.
5. **Burch, H. B., Wartofsky, L.:** Graves' ophthalmopathy: Current concepts regarding pathogenesis and management. *Endocr. Rev.*, 1993, 14, s. 747-793.
6. **Prummel, M. F.:** Pathogenesis and clinical aspects of endocrine ophthalmopathy. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 1999, 107 (Suppl. 3), s. 75-78.
7. **Cambell, R. J.:** Pathology of Graves' ophthalmopathy. In: Gorman, C. A., Waller, R. R., Dyer, J. A. (eds.) *The eye and orbit in thyroid disease*. New York, Raven Press, 1984, s. 25-31.
8. **Heufelder, A. E.:** Pathogenesis of ophthalmopathy in autoimmune thyroid disease. *Rev. Endocr. Metab. Disord.*, 2000, 1(1-2), s. 87-95.
9. **Schuppert, F., Hiller, W. F. A., Weinland, G. et al.:** Iodide, cytokines and TSH receptor expression in Graves' disease. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.*, 1996, 104 (Suppl. 4), s. 68-74.
10. **Heufelder, A. E., Dutton, C. M., Sarkar, G. et al.:** Detection of TSH receptor RNA in cultured fibroblasts from patients with Graves' ophthalmopathy and pretibial dermopathy. *Thyroid*, 1993, 3, s. 297-300.
11. **Hiromatsu, Y., Sato, M., Inoue, Y. et al.:** Localization and clinical significance of thyrotropin receptor mRNA expression in orbital fat and eye muscle tissue from patients with thyroid-associated ophthalmopathy. *Thyroid*, 1996, 6, s. 553-562.
12. **Busuttil, B. E., Frauman, A. G.:** Extrathyroidal manifestations of Graves' disease: the thyrotropin receptor is expressed in extraocular, but not cardiac, muscle tissues. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001, 86, s. 2315-2319.
13. **Dong, Q., Ludgate, M., Vassart, G.:** Cloning and sequencing of a novel 64-kDa autoantigen recognized by patients with autoimmune thyroid disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1991, 72, s. 1375-1381.
14. **Ross, P. V., Koenig, R. J., Arscott, P. et al.:** Tissue specificity and serologic reactivity of an autoantigen associated with autoimmune thyroid disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1993, 77, s. 433-438.
15. **Zhang, Z. G., Wall, J. R., Bernard, N. F.:** Tissue distribution and quantitation of a gene expressing a 64-kDa antigen associated with thyroid-associated ophthalmopathy. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1996, 80, s. 236-244.
16. **Kromminga, A., Hagel, C., Arndt, R., Schuppert, F.:** Serological reactivity of recombinant 1D autoantigen and its expression in human thyroid and eye muscle tissue: a possible autoantigenic link in Graves' patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998, 83, s. 2817-2823.
17. **Gunji, K., De Bellis, A., Li, A. W. et al.:** Cloning and characterization of the novel thyroid and eye muscle shared protein G2s: autoantibodies against G2s are closely associated with ophthalmopathy in patients with Graves' hyperthyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000, 85, s. 1341-1347.
18. **Yamada, M., Li, A. W., Wall, J. R.:** Thyroid-associated ophthalmopathy: clinical features, pathogenesis and management. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 2000, 37, s. 523-549.
19. **Lisi, S., Marino, M., Pinchera, A. et al.:** Thyroglobulin in orbital tissues from patients with thyroid-associated ophthalmopathy: predominant localization in fibroadipose tissue. *Thyroid*, 2002, 12, s. 351-360.
20. **Werner, S. C.:** Modification of the Classification of the Eye Changes of Graves' Disease: Recommendations of the Ad Hoc Committee of The American Thyroid Association. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1977, 44, s. 201-203.
21. **Heufelder, A. E., Dutton, C. M., Sarkar, G. et al.:** Detection of TSH receptor RNA in cultured fibroblasts from patients with Graves' ophthalmopathy and pretibial dermopathy. *Thyroid*, 1993, 3, s. 297-300.
22. **Hiromatsu, Y., Sato, M., Inoue, Y. et al.:** Localization and clinical significance of thyrotropin receptor mRNA expression in orbital fat and eye muscle tissue from patients with thyroid-associated ophthalmopathy. *Thyroid*, 1996, 6, s. 553-562.
23. **Busuttil, B. E., Frauman, A. G.:** Extrathyroidal manifestations of Graves' disease: the thyrotropin receptor is expressed in extraocular, but not cardiac, muscle tissues. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001, 86, s. 2315-2319.
24. **Madaio, M. P., Yanase, K.:** Cellular penetration and nuclear localization of anti-DNA antibodies: mechanisms, consequences, implications and applications. *J. Autoimmun.*, 1998, 11, s. 535-538.
25. **Abiru, N., Eisenbarth, G. S.:** Multiple genes/multiple autoantigens role in type 1 diabetes. *Clin. Rev. Allergy. Immunol.*, 2000, 18, s. 27-40.
26. **Wall, J. R.:** Graves' disease is a multi-system autoimmune disorder in which extra ocular muscle damage and connective tissue inflammation are variable features. *Thyroid*, 2002, 12, s. 35-36.
27. **Váňa, S., Němec, J., Rezek, P. et al.:** Význam stanovení protilátek proti receptoru pro TSH (TRAK) pro diagnostiku a sledování terapie endokrinní orbitopatie. *Vnitř. Lék.*, 1994, 40, s. 636-638.
28. **Novák, Z., Hrdá, P., Matucha, P., Šterzl, I.:** Prediktivní faktory rozvoje známek tyreoidální orbitopatie u pacientů po léčbě radiojodem nebo totální tyreoidektomií. *Vnitř. Lék.*, 2005, 51, s. 650-657.
29. **Liblau, R. S., Singer, S. M., McDevitt, H. O.:** Th1 and Th2 CD4<sup>+</sup> T cells in the pathogenesis of organ-specific autoimmune diseases. *Immunol. Today*, 1995, 16, s. 34-38.
30. **Hiromatsu, Y., Yang, D., Bednarczuk, T. et al.:** Cytokine profiles in eye muscle tissue and orbital fat tissue from patients with thyroid-associated ophthalmopathy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000, 85, s.1194-1199.

Práce vznikla díky podpoře VZ MSM 0021620812.

## PŮVODNÍ PRÁCE

## Vliv časně postnatální výživy u předčasně narozených dětí na jejich antropometrické a hormonální charakteristiky ve věku 10 let

Zamrazilová H., Hainer V., <sup>1</sup>Černá M., Kunešová M., Braunerová R.,  
<sup>2</sup>Štěpán J., Nedvídková J., Hill M., Pařízková J.

*Endokrinologický ústav, Praha*

<sup>1</sup>*Ústav pro péči o matku a dítě, Praha*

<sup>2</sup>*III. Interní klinika 1. LF UK a VFN, Praha*

### ABSTRAKT

**Východisko.** Ochranný vliv kojení na rozvoj obezity byl jasně prokázán. Četné studie spojují vyšší příjem proteinů v postnatálním období s časnějším nástupem „adiposity rebound“ a vyšším body mass indexem v pozdějším věku.

**Metody a výsledky.** Longitudinální studie se zúčastnilo 28 dívek narozených ve 34. týdnu těhotenství (porodní hmotnost:  $2,2 \pm 0,3$  kg, délka:  $45,2 \pm 2,5$  cm, body mass index (BMI):  $11,0 \pm 1,5$  kg/m<sup>2</sup>). Podle významně odlišného příjmu bílkovin v prvním měsíci po narození byly dívky rozděleny do dvou skupin (příjem bílkovin dívky kojené:  $113,5 \pm 18,7$  g/měsíc vs. příjem bílkovin dívky s náhradní mléčnou výživou:  $174,0 \pm 14,3$  g/měsíc;  $p < 0,0001$ ). Skupiny se nelišily v tělesné délce, hmotnosti a BMI při narození. U desetiletých dívek byly stanoveny antropometrické a hormonální charakteristiky, složení těla, příjem energie a makronutrientů a BMI jejich rodičů. Byl sledován vztah mezi časnou postnatální výživou a antropometrickými a hormonálními parametry v deseti letech. Při vyšetření v deseti letech nebyly kromě hladiny IGF-1 mezi skupinami zjištěny žádné rozdíly v antropometrických a hormonálních parametrech. Hladina IGF-1 v deseti letech byla významně vyšší u skupiny s vyšším příjmem bílkovin po narození. Příjem bílkovin po narození nekoreloval s množstvím tukové tkáně a leptinu desetiletých dívek. Prokázali jsme však významné pozitivní korelace mezi příjmem bílkovin po narození a IGF-1, BMI a tělesnými obvody v deseti letech. Postnatální příjem tuků koreloval s IGF-1, tělesnými obvody a navíc také se sagitálním rozměrem a hladinou leptinu v deseti letech.

**Závěry.** Časná postnatální výživa by mohla ovlivňovat hladinu IGF-1 v pozdějším věku a ovlivňovat tak tělesný rozvoj. Faktorová analýza ukázala IGF-1 jako pojítko mezi postnatálním příjmem energie a makronutrientů, antropometrických parametrů a hladiny leptinu v deseti letech.

**Klíčová slova:** postnatální příjem bílkovin, antropometrické parametry, tuková tkáň, leptin, IGF-1, předčasně narozené děti.

### ABSTRACT

*Zamrazilová H., Hainer V., Černá M. et al.: Influence of Early Postnatal Nutrition in Preterm Infants on Their Anthropometric and Hormonal Characteristics at the Age of 10 Years*

**Background.** A protective effect of breast feeding on the development of obesity has been clearly demonstrated. Several studies associated higher protein intake in postnatal period with the earlier “adiposity rebound” and the higher BMI in later life.

**Methods and Results.** Twenty eight girls born at 34th week of pregnancy (weight:  $2.22 \pm 0.31$  kg, length:  $45.2 \pm 2.5$  cm, BMI:  $11.0 \pm 1.5$  kg/m<sup>2</sup>), were subdivided in two groups differing in protein intake during the first postnatal month due to either breast feeding or formula feeding ( $113.5 \pm 18.7$  g/month vs.  $174.00 \pm 14.3$  g/month;  $p < 0.0001$ ). Groups did not differ in average body weight, height and BMI at birth. Anthropometric and hormonal characteristics, body composition, energy and macronutrient intakes were determined at the age of 10 years in girls together with parental BMI. Association between the early postnatal nutrition and anthropometric and hormonal indexes at 10 years was evaluated. No significant differences between the groups in anthropometric and hormonal characteristics were found at 10 years except for IGF-1 which was significantly higher in the group with increased postnatal protein intake. Protein intake during the first postnatal month was not related to fat mass and leptin levels at 10 years. Protein intake during the first postnatal month significantly correlated with IGF-1 level, BMI and body circumferences at 10 years. Postnatal fat intake correlates with body circumferences and IGF-1 and also with sagittal diameter and leptin at 10 years.

**Conclusions.** Early postnatal nutrition could encode IGF-1 in later life and this way may be involved in body size programming. Factor analysis revealed IGF-1 as a link between the postnatal energy and macronutrient intake and anthropometric indices and leptin at the age of 10 years.

**Key words:** postnatal protein intake, anthropometric indices, fat mass, leptin, IGF-1, preterm infants.

Za.

Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 278–283.

Vyšší příjem bílkovin v postnatálním období do dvou let věku je podle některých studií (1, 2) odpovědný za časnější nástup „adiposity rebound“ a za vyšší body mass index (BMI) v pozdějším věku. Termínem „adiposity rebound“ je označováno opětovné zvýšení BMI ve věku 5–6 let po předchozím poklesu mezi 1.–5. rokem. Díky nižšímu obsahu bílkovin v mateřském mléce oproti náhradní mléčné výživě by tedy kojení mohlo působit protektivně před pozdějším rozvojem nadváhy a obezity (3). Na ochranný vliv kojení poukazuje řada studií (4). Studie pěti a šestiletých německých dětí hovoří o 4,5% prevalenci obezity u nekojených dětí vs. 2,8% u dětí kojených (5). Studie DARLING odhalila, že děti kojené do jednoho roku jsou oproti dětem krmeným náhradní mléčnou výživou štíhlejší (6). Podle studie Li et al. (7) jsou nadváhou nejvíce ohroženy děti, které nebyly nikdy kojené a navíc jejich matky trpěly před těhotenstvím obezitou. Jiná studie uvádí ochranný vliv kojení, podmíněný nekuřáctvím matek. Nízké riziko obezity ve čtyřech letech se projevilo pouze u dětí bělochů, jejichž matky během těhotenství nekouřily a pouze pokud byly tyto děti výhradně kojené alespoň 16 týdnů, a nebo částečně kojené přinejmenším 26 týdnů (8). Přestože Scaglioni et al. (9) označil za majoritní rizikový faktor pro rozvoj dětské nadváhy obezitu rodičů, také popsal u skupiny pětiletých dětí s nadváhou signifikantně vyšší příjem bílkovin během prvního roku života oproti jejich vrstevníkům s normální hmotností. Hypotézou, že nadbytečný příjem bílkovin v dětství představuje rizikový faktor rozvoje obezity, se zabývá i v pěti evropských centrech právě probíhající „The European Childhood Program“ (10). Naše předchozí studie (11) však vliv příjmu bílkovin v časném postnatálním období u předčasně narozených dětí na antropometrické charakteristiky neprokázala. BMI u dětí v pěti a sedmi letech nevykazoval signifikantní rozdíl mezi kojenými dětmi a dětmi s náhradní mléčnou výživou. Nepotvrdili jsme tedy u nekojených dětí v sedmi letech časnější nástup „adiposity rebound“. Cílem předkládané pokračovací studie bylo zjistit, zda se projevívá vliv časně postnatální výživy na tělesném složení, antropometrických parametrech a sérových hladinách leptinu a IGF-1 (insulin-like growth factor-I) u dětí v deseti letech. Leptin je hormon produkovaný převážně buňkami tukové tkáně, který ovlivňuje energetickou rovnováhu a jehož koncentrace úzce souvisí s množstvím tukové tkáně v organizmu. IGF-1 je hormon strukturou podobný inzulínu. Významnou roli sehrává během postnatálního růstu a vývoje. IGF-1 stimuluje adipogenezi, inhibuje proteolýzu a zvyšuje proteosyntézu (12, 13). Důležitou úlohu má i v inzulínové senzitivitě, neboť nedostatek IGF-1 je spojován s hyperinzulinémií a inzulínovou rezistencí (14).

## SOUBOR NEMOCNÝCH A POUŽITÉ METODY

Do studie bylo zařazeno 28 předčasně narozených dívek (34. týden těhotenství). Podle způsobu postnatální výživy byly rozděleny do dvou skupin po 14 dívkách (v prvním měsíci života převážně kojené vs. převážně s náhradní mléčnou výživou). V základních parametrech (porodní hmotnost, délka a BMI) se skupiny signifikantně nelišily. Zásadní rozdíl byl v celkovém příjmu energie a makronutrientů (bílkovin, tuků, sacharidů) v prvním měsíci života. Příjem bílkovin byl u skupiny dívek s náhradní mléčnou výživou o 53,5 % ( $p < 0,0001$ ) vyšší oproti dívkám, které byly převážně kojené. Základní antropometrické údaje zjištěné při narození, energetický příjem a zastoupení makronutrientů ve výživě ukazuje tabulka 1.

**Tab. 1.** Antropometrické charakteristiky a příjem energie a makronutrientů během prvního měsíce po narození

Parametr	převážně kojené dívky (n=14) x±SD	převážně uměle vyživované dívky (n=14) x±SD	p
týden narození	34,2±2,0	34,0±1,3	NS
porodní hmotnost (g)	2128,6±379,1	2305,7±280,7	NS
porodní délka (cm)	44,5±2,8	45,9±2,4	NS
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	11,09±1,91	10,93±1,06	NS
energetický příjem (MJ/měsíc)	28,38±5,18	33,25±4,96	<0,05
bílkoviny (g/měsíc)	113,5±18,7	174,0±14,3	<0,0001
sacharidy (g/měsíc)	701,8±129,9	814,9±125,4	<0,05
tuky (g/měsíc)	341,9±62,4	409,6±51,9	<0,001

NS – nesignifikantní

Rodiče dívek byli na počátku seznámeni s významem a způsobem provedení studie a podepsali informované souhlasy s účastí svou i svých dětí ve studii. Skupina byla sledována průběžně po dobu deseti let. Při všech kontrolách, tj. v 1, 3, 5, 7 a 10 letech dívek byla zaznamenána tělesná výška, hmotnost a BMI. U desetiletých dívek jsme navíc zjišťovali sérové hladiny leptinu a IGF-1, tělesné složení a průměrný denní energetický příjem. Mimo hormonálních hladin byly tyto parametry zjišťovány i u rodičů. Údaje z kontroly v deseti letech věku dívek udává tabulka 2.

Antropometrické parametry byly měřeny za standardních vyšetřovacích podmínek, tělesná výška byla měřena stadiometrem s přesností na 0,5 cm, hmotnost nášlapnou vahou s přesností na 0,1 kg, obvody hrudníku, břicha, boků a paže pásovou mírou s přesností na 0,1 cm, kožní řasy kaliperem typu Best (11 řas podle Pařízkové), sagitální rozměr ve výši 4.–5. lumbálního obratle pelvimetrem. Tělesné složení bylo zjištěno metodou DEXA (dual X-ray absorptiometry) na přístroji typu Lunar-DPXL system.

**Tab. 2.** Antropometrické a hormonální charakteristiky, příjem energie a makronutrientů v deseti letech věku sledovaných dívek; BMI a věk rodičů

Parametr	převážně kojené dívky (n=14) x±SD	převážně uměle vyživované dívky (n=14) x±SD	p
tělesná hmotnost (kg)	33,2±10,2	37,2±8,2	NS
tělesná výška (cm)	140,8±10,8	145,8±9,1	NS
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	16,4±2,93	17,31±2,21	NS
tuková hmota (kg)	8,23±5,25	9,54±4,51	NS
tuková hmota (%)	24,81±8,89	25,94±8,48	NS
beztuková hmota (kg)	24,94±6,15	27,57±5,15	NS
leptin (ng/ml)	2,57±1,29	2,88±1,46	NS
IGF-1 (ng/ml)	353,1±194,5	496,9±152,8	<0,05
energetický příjem (kJ/den)	9144±1894	9280±1921	NS
bílkoviny (g/den)	69,7±14,7	67,4±10,4	NS
sacharidy (g/den)	309±81,8	307,9±76,7	NS
tuky (g/den)	76,2±14,8	79,9±16,3	NS
BMI (kg/m <sup>2</sup> ) – matky	20,99±2,40	22,54±2,62	NS
Věk matek (roky)	36,0±5,1	36,6±5,5	NS
BMI (kg/m <sup>2</sup> ) – otcové	24,97±3,73	25,16±3,47	NS
věk otců (roky)	41,9±7,9	39,4±8,3	NS

NS – nesignifikantní

Všechny sledované dívky zůstávaly po porodu v porodnici nejméně jeden měsíc, kde bylo denně zaznamenáváno množství přijatého mateřského mléka a náhradní mléčné výživy. Z těchto údajů byl vypočten příjem energie a makronutrientů. Obsah bílkovin v mateřském mléce byl stanoven standardní metodikou vyvinutou ve Výzkumném ústavu mlékárenském v Praze. Obsah energie a bílkovin v náhradní mléčné výživě byl získán na základě údajů deklarovaných výrobcem. Dívky byly stejným způsobem živěny vždy minimálně půl roku, nicméně přesný energetický příjem mohl být zaznamenáván pouze první měsíc v porodnici. V 7 a 10 letech věku dívek byl průměrný energetický příjem a složení potravy dívek a jejich rodičů zjišťován pomocí záznamu jídelníčku (matky týden zapisovaly veškerou přijatou stravu), který následně vyhodnotila dietní sestra pomocí počítačového programu „Výživa“.

Pro stanovení sérových hladin IGF-1 a leptinu bylo dívkám v 7 a 10 letech odebráno 10 ml venózní krve. Odběr probíhal vždy v ranních hodinách po celonočním lačnění. Hormonální hladiny byly stanoveny metodou RIA (IGF-1: kit firmy Immunotech – IRMA, Česká republika; leptin: kit Linco Inc. – St. Charles, Mo, USA).

#### Statistická analýza

Výsledky jsou uváděny jako průměry se směrodatnými odchylkami. Z důvodu negaussovské distribuce a nekonstantního rozptylu u většiny proměnných byla původní data transformována mocninou transformací s užitím statistického software Statgraphics Plus, verze 5.1 od Manugistics (Rockville, MA, U.S.A) tak, aby bylo dosaženo symetrie a konstantního rozptylu. Homogenita dat po mocninné transformaci byla prověřena aplikací Mahalanobisovy vzdálenosti s F-rozdělením jako kritéria odlehlosti bodů (statistický software NCSS2002, Kaysville, Utah, USA).

Data upravená uvedeným způsobem byla podrobena korelační analýze. Následně byla provedena faktorová analýza založená na metodě hlavních faktorů, a poté faktorová rotace VARIMAX. Počet

faktorů byl stanoven na základě Kaiserova kritéria, přičemž faktory s hodnotou příslušného vlastního čísla menší než 1 nebyly uvažovány. Kromě faktorové analýzy byla ke studiu vztahů mezi jednou závisle proměnnou (získanou ve fázi 10 let) a sadou nezávisle proměnných (získaných při porodu a v postnatální periodě a z aktuálního BMI rodičů v tomto období) užitá regresní analýza se zpětným vylučováním nevýznamných nezávisle proměnných při hodnotě F-statistiky pro danou proměnnou menší než 4. V případě regrese byly proměnné opět transformovány s cílem dosažení symetrie, konstantního rozptylu v datech i reziduích a snížení počtu vlivných bodů.

## VÝSLEDKY

Při narození nebyly mezi skupinami žádné signifikantní rozdíly v základních antropometrických parametrech. Statisticky významně se lišil pouze celkový energetický příjem a složení potravy (tab. 1). Z tabulky 2 vyplývá, že ani při kontrole v 10 letech nebyly ve sledovaných antropometrických charakteristikách zaznamenány signifikantní rozdíly. Statisticky významně vyšší hodnoty byly zaznamenány pouze v případě hladiny IGF-1 ve skupině dívek s převážně náhradní mléčnou výživou (496,9±152,8 ng/ml vs. 353,1±194,5 ng/ml; p<0,05).

Tabulka 3 ukazuje vybrané korelace mezi antropometrickými daty, hormonálními hladinami a postnatálním příjmem energie a makronutrientů. Nezaznamenali jsme žádnou signifikantní korelaci mezi BMI dívek při narození a mezi BMI matek a ostatními sledovanými parametry. Naproti tomu BMI otců signifikantně korelovalo se všemi sledovanými antropometrickými parametry a navíc i s hladinou leptinu 10letých dívek. Postnatální příjem tuků a sacharidů signifikantně pozitivně koreloval s hladinou leptinu i IGF-1, s obvodovými rozměry a sagitálním rozměrem, nekoreloval však s BMI a tělesným složením dívek. Graf 1 znázorňuje statisticky významnou pozitivní korelaci mezi příjmem bílkovin po narození a hladinou IGF-1 v deseti letech. Korelace mezi postnatálním příjmem bílkovin s hladinou leptinu a s množstvím tukové hmoty v procentech či kilogramech se u 10letých dívek neprokázaly.

Dále jsme pomocí faktorové analýzy zjišťovali vzájemný vztah mezi antropometrickými, hormonálními a nutričními parametry (tab. 4). Zjištěné faktorové zátěže představují korelace mezi faktorem a příslušnou proměnnou. Extrakcí byly nalezeny tři faktory, které splňovaly Kaiserovo kritérium (vlastní číslo >1). První faktor ukazoval společný rys mezi BMI otců a skupinou proměnných, tj. antropometrických parametrů desetiletých dívek (BMI, tělesná výška, obvody hrudníku, pasu a paže, sagitální rozměr a tuková hmota) a hladinami leptinu a IGF-1 v 10 letech. Druhý faktor ukázal asociaci mezi hladinou IGF-1 a BMI matek a celkovým energetickým příjmem a příjmem jednotlivých makronutrientů během prvního měsíce po narození. Třetí faktor odhalil významný negativní vztah mezi BMI otců a celkovým příjmem energie a makronutrientů 10letých dívek.

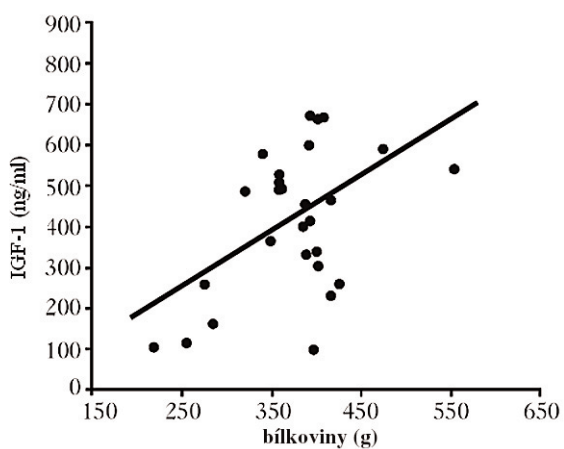
Použitím regresní analýzy byl vytvořen predikční model pro antropometrické a hormonální parametry. Jako nejvýznamnější faktor pro predikci tělesné hmotnosti, obvodu pasu, paže a hrudníku se zdál BMI otců zjištěný v době, kdy dívkám bylo 10 let. BMI matek i otců se z 63,5 % podílel na predikci BMI dívek v deseti letech. BMI otců, postnatální

Tab. 3. Korelační analýza mezi antropometrickými a hormonálními parametry

	BMI <sup>0</sup>	BMI <sup>10m</sup>	BMI <sup>10o</sup>	energetický příjem <sup>0</sup>	bílkoviny <sup>0</sup>	tuky <sup>0</sup>	sacharidy <sup>0</sup>	IGF-1 <sup>10</sup>	leptin <sup>10</sup>
BMI <sup>0</sup>	1,000 ---	0,320 0,097	-0,064 0,745	0,293 0,131	0,152 0,441	0,269 0,166	0,256 0,189	0,013 0,950	0,169 0,390
BMI <sup>10m</sup>	0,320 0,097	1,000 ---	-0,170 0,386	0,300 0,122	0,330 0,087	0,291 0,133	0,251 0,198	0,243 0,213	-0,063 0,751
BMI <sup>10o</sup>	-0,064 0,745	-0,170 0,386	1,000 ---	0,197 0,316	0,218 0,265	0,260 0,182	0,260 0,181	0,337 0,080	<b>0,439</b> <b>0,019</b>
energetický příjem <sup>0</sup>	0,293 0,131	0,300 0,122	0,197 0,316	1,000 ---	<b>0,628</b> <b>0,000</b>	<b>0,988</b> <b>0,000</b>	<b>0,933</b> <b>0,000</b>	<b>0,426</b> <b>0,024</b>	0,371 0,052
bílkoviny <sup>0</sup>	0,152 0,441	0,330 0,087	0,218 0,265	<b>0,628</b> <b>0,000</b>	1,000 ---	<b>0,697</b> <b>0,000</b>	<b>0,602</b> <b>0,001</b>	<b>0,518</b> <b>0,005</b>	0,238 0,223
tuky <sup>0</sup>	0,269 0,166	0,291 0,133	0,260 0,182	<b>0,988</b> <b>0,000</b>	<b>0,697</b> <b>0,000</b>	1,000 ---	<b>0,988</b> <b>0,000</b>	<b>0,468</b> <b>0,012</b>	<b>0,406</b> <b>0,032</b>
sacharidy <sup>0</sup>	0,256 0,189	0,251 0,198	0,260 0,181	<b>0,993</b> <b>0,000</b>	<b>0,602</b> <b>0,001</b>	<b>0,988</b> <b>0,000</b>	1,000 ---	<b>0,443</b> <b>0,018</b>	<b>0,394</b> <b>0,038</b>
IGF-1 <sup>10</sup>	0,013 0,950	0,243 0,213	0,337 0,080	<b>0,426</b> <b>0,024</b>	<b>0,518</b> <b>0,005</b>	<b>0,468</b> <b>0,012</b>	<b>0,443</b> <b>0,018</b>	1,000 ---	0,319 0,098
leptin <sup>10</sup>	0,169 0,390	-0,063 0,751	<b>0,439</b> <b>0,019</b>	0,371 0,052	0,238 0,223	<b>0,406</b> <b>0,032</b>	<b>0,394</b> <b>0,038</b>	0,319 0,098	1,000 ---
BMI <sup>10</sup>	0,269 0,167	0,146 0,457	<b>0,509</b> <b>0,006</b>	0,313 0,105	<b>0,380</b> <b>0,046</b>	0,372 0,051	0,327 0,089	<b>0,409</b> <b>0,031</b>	<b>0,704</b> <b>0,000</b>
hrudník <sup>10</sup>	0,240 0,220	0,048 0,808	<b>0,589</b> <b>0,001</b>	<b>0,413</b> <b>0,029</b>	<b>0,438</b> <b>0,020</b>	<b>0,466</b> <b>0,013</b>	<b>0,433</b> <b>0,021</b>	<b>0,484</b> <b>0,009</b>	<b>0,593</b> <b>0,001</b>
pas <sup>10</sup>	0,292 0,132	-0,105 0,594	<b>0,458</b> <b>0,014</b>	<b>0,485</b> <b>0,009</b>	<b>0,403</b> <b>0,034</b>	<b>0,502</b> <b>0,007</b>	<b>0,484</b> <b>0,009</b>	0,345 0,072	<b>0,617</b> <b>0,000</b>
paže <sup>10</sup>	0,189 0,337	0,090 0,651	<b>0,432</b> <b>0,022</b>	<b>0,383</b> <b>0,044</b>	<b>0,413</b> <b>0,029</b>	<b>0,418</b> <b>0,027</b>	<b>0,385</b> <b>0,043</b>	<b>0,413</b> <b>0,029</b>	<b>0,586</b> <b>0,001</b>
SR <sup>10</sup>	0,184 0,350	-0,105 0,596	<b>0,557</b> <b>0,002</b>	<b>0,381</b> <b>0,045</b>	0,286 0,140	<b>0,403</b> <b>0,034</b>	<b>0,388</b> <b>0,042</b>	0,322 0,095	<b>0,462</b> <b>0,013</b>
tuková hmota <sup>10</sup>	0,188 0,338	-0,081 0,682	<b>0,411</b> <b>0,030</b>	0,214 0,275	0,305 0,115	0,248 0,203	0,210 0,284	0,249 0,201	<b>0,763</b> <b>0,000</b>

Korelační koeficient se nachází v horním řádku buňky, hladina významnosti p ve spodním řádku buňky.

X<sup>0</sup> – hodnota proměnné při narození, X<sup>10</sup> – hodnota proměnné v 10 letech, BMI<sup>10m</sup> – BMI matek v 10 letech dívek, BMI<sup>10o</sup> – BMI otců v 10 letech dívek, SR – sagitální rozměr



Graf 1. Korelace mezi příjmem bílkovin (g) v prvním měsíci života a hladinou IGF-1 (ng/ml) v 10 letech ( $r=0,518$ ,  $p=0,005$ )

příjem energie a sacharidů predikovaly obvod paže v 10 letech (vysvětleno 65,6% variability,  $p=0,0001$ ). BMI otců a energetický příjem v 10 letech predikovaly obvod pasu v 10 letech (vysvětleno 58,3 % variability,  $p=0,0001$ ). Postnatální spotřeba bílkovin se při mnohočetné regresní analýze ukázala jako jediný prediktor hladiny IGF-1 v 10 letech ( $r^2=26,9$ ;  $r=0,519$ ,  $p=0,0047$ ). Model predikce tukové hmoty zachycuje tabulka 5.

## DISKUZE

Výsledky studie prokazují souvislosti mezi výživou během prvního měsíce po narození a antropometrickými parametry a sérovými hladinami IGF-1 a leptinu v 10 letech. Neprokázano se signifikantní korelace mezi BMI dívek při narození či mezi BMI jejich matek a antropometrickými a hormonálními

**Tab. 4.** Faktorová analýza antropometrických a hormonálních vztahů ukázala IGF-1 jako pojítka mezi postnatálním příjmem energie a makronutrientů a antropometrickými parametry v 10 letech a BMI otců jako pojítka mezi příjmem energie a makronutrientů dívek v 10 letech

Proměnná	faktor 1	faktor 2	faktor 3
BMI <sup>0</sup>	0,152	0,284	0,190
BMI <sup>10m</sup>	-0,113	<b>0,415</b>	0,189
energetický příjem <sup>0</sup>	0,210	<b>0,954</b>	-0,060
bílkoviny <sup>0</sup>	0,268	<b>0,677</b>	0,050
tuky <sup>0</sup>	0,257	<b>0,951</b>	-0,087
sacharidy <sup>0</sup>	0,231	<b>0,933</b>	-0,118
IGF-1 <sup>10</sup>	<b>0,347</b>	<b>0,435</b>	-0,164
tělesná výška <sup>10</sup>	<b>0,801</b>	0,034	-0,291
BMI <sup>10</sup>	<b>0,905</b>	0,179	-0,003
hrudník <sup>10</sup>	<b>0,910</b>	0,255	-0,066
pas <sup>10</sup>	<b>0,885</b>	0,277	0,091
paže <sup>10</sup>	<b>0,894</b>	0,223	0,042
SR <sup>10</sup>	<b>0,878</b>	0,163	0,009
tuková hmota <sup>10</sup>	<b>0,896</b>	0,100	0,103
leptin <sup>10</sup>	<b>0,657</b>	0,212	-0,096
BMI <sup>10o</sup>	<b>0,587</b>	0,059	<b>-0,451</b>
energetický příjem <sup>10</sup>	0,026	-0,013	<b>0,980</b>
bílkoviny <sup>10</sup>	-0,012	-0,002	<b>0,767</b>
tuky <sup>10</sup>	-0,258	0,091	<b>0,777</b>
sacharidy <sup>10</sup>	0,075	-0,020	<b>0,941</b>
vlastní číslo	8,0	3,4	2,6
kumulativně	8,0	11,5	14,1
% celkem	40,1	17,2	13,1
kumulativně	40,1	57,3	70,4

Byla použita metoda hlavních faktorů následovaná VARIMAX rotací faktorů.

X<sup>0</sup> – hodnota proměnné při narození, X<sup>10</sup> – hodnota proměnné v 10 letech, BMI<sup>10m</sup> – BMI matek v 10 letech dívek, BMI<sup>10o</sup> – BMI otců v 10 letech dívek, SR – sagitální rozměr

charakteristikami dívek v pozdějším období. Je ovšem nutné vzít v úvahu, že dívky zařazené do studie byly předčasně narozené a BMI při narození tedy neodráží plně jejich genetický potenciál. Přestože byly prokázány signifikantní korelace mezi BMI dětí a BMI jejich biologických rodičů a nikoliv rodičů adoptivních (15), není zcela jasné, zda BMI matky nebo otce mají stejný vliv na BMI dítěte. Studie Savva et al. (16) hovoří o prokazatelném vlivu obezity otce na rozvoj nadváhy v časném dětství. V naší studii se za použití korelace a faktorové analýzy podařilo odhalit signifikantní asociace BMI otců s BMI, tělesnou výškou, tukovou hmotou, sagitálním rozměrem a všemi sledovanými tělesnými obvody 10letých dívek.

Pozitivní vliv kojení na tělesnou hmotnost potvrdila i průřezová studie provedená v České republice v roce 1991 na téměř 34 tisících školních dětech věkové kategorie 6–14 let. Ukázala, že bez ohledu na socioekonomický faktor je prevalence nadváhy a obezity kojených dětí nižší ve srovnání s dětmi, které nebyly nikdy kojené (17).

Naše studie neprokázala signifikantní korelace mezi příjmem bílkovin v prvním měsíci života, množstvím tukové hmoty a hladinou sérového leptinu. Nepotvrdili jsme tedy vliv příjmu bílkovin v časném dětství na zmnožení tukové tkáně u 10letých dívek.

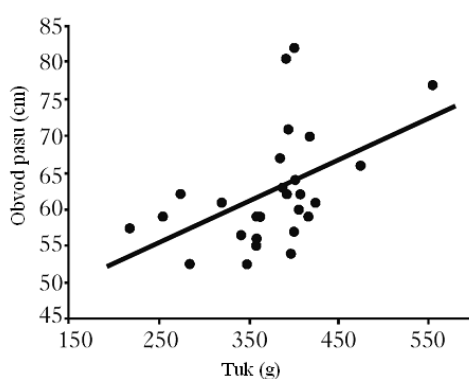
Zatímco v naší studii byl zjišťován příjem bílkovin během prvního měsíce života, ostatní studie se orientují spíše na starší děti (1, 18). Z výsledků studie Michelsen et al. (18), která sledovala děti narozené v řádném termínu, vyplývá, že příjem bílkovin v devíti měsících souvisí s tělesným rozvojem, ale nikoliv s adipozitou 10letých dětí. Hladina IGF-1 v devíti měsících nekorelovala v 10 letech s žádným antropometrickým parametrem, ale pouze s hladinou IGF-1. Oproti zmíněné studii jsme našli signifikantní pozitivní korelaci příjmu bílkovin po narození nejenom s hladinou IGF-1 v deseti letech, ale i s hodnotami obvodů hrudníku, břicha, paže a BMI.

**Tab. 5.** Model mnohočetné regrese pro predikci tukové hmoty (kg) v 10 letech věku (FM<sub>10</sub>) na základě BMI (kg/m<sup>2</sup>) otců v období, kdy dívky dosáhly 10 let (BMI<sub>otec10</sub>), energetického příjmu dívek během prvního měsíce po narození (energetický příjem<sub>0</sub>) a příjmu bílkovin dívek v deseti letech věku (bílkoviny<sub>10</sub>)

Parametr	Závislá proměnná <sup>*</sup> : -(FM <sub>10</sub> <sup>-0,08</sup> )			
	odhad	SE	T-statistika	významnost p<
konstanta <sup>**</sup>	-0,951	0,089	-10,62	0,0001
-(BMI <sub>otec10</sub> <sup>-1,08</sup> )	6,09	1,08	5,63	0,0001
energetický příjem <sub>0</sub> <sup>0,78</sup>	2,46x10 <sup>-5</sup>	1,04x10 <sup>-5</sup>	2,36	0,0278
bílkoviny <sub>10</sub> <sup>0,26</sup>	0,0718	0,0303	2,37	0,0272
Predikční model:				
-(FM <sub>10</sub> <sup>-0,08</sup> )=-0,951-6,091 x (BMI <sub>otec10</sub> <sup>-1,08</sup> )+2,46x10 <sup>-5</sup> x energetický příjem <sub>0</sub> <sup>0,78</sup> +0,0718 x bílkoviny <sub>10</sub> <sup>0,26</sup>				
hladina významnosti (p<...)	0,001			
korelační koeficient vícenásobné regrese	0,810			
koeficient determinace (podíl rozptylu závisle proměnné vysvětlený modelem)	65,6 %			
korelační koeficient vícenásobné regrese adjustovaný na počet stupňů volnosti	0,779			

\*K dosažení symetrie v datech i reziduiích a ke stabilizaci rozptylu byly použity mocninné transformace.

\*\*Zpětná regrese s kritériem F-statistiky >4 pro zahrnutí parametru do modelu.



**Graf 2.** Korelace mezi příjmem tuků (g) v prvním měsíci po narození a obvodem pasu (cm) v deseti letech ( $r=0,502$ ,  $p=0,007$ )

Wauben et al. (19) prokázali signifikantně vyšší váhový přírůstek u předčasně narozených dětí krmených náhradní mléčnou výživou s vyšším obsahem bílkovin oproti kojencům, kteří dostávali mléčnou výživu s nižším obsahem bílkovin. Z hlediska rozvoje nadváhy v dospělosti se podle studie provedené na skupině Američanů, kteří byli v dětství krmeni náhradní mléčnou výživou, jako důležitý jeví váhový přírůstek v prvním týdnu života (20). I studie provedená na kohortě Afro-Američanů naznačuje, že rychlost váhového přírůstku během prvních čtyř měsíců života může predikovat rozvoj obezity v adolescenci (21). Naše studie prokázala souvislost postnatálního příjmu makronutrientů s obvodem hrudníku, břicha a paže. Graf 2 ukazuje, že asociace příjmu tuků v prvním měsíci života s obvodem břicha v 10 letech je statisticky velmi významná. To znamená, že narozdíl od množství tělesného tuku je tělesný vývoj (vyjádřený tělesnými obvody) částečně ovlivňován příjmem makronutrientů v časném postnatálním období.

Prezentovaná studie prokázala signifikantní vztah mezi příjmem bílkovin v prvním měsíci po narození a hladinou IGF-1 v 10 letech. Faktorová analýza navíc ukázala IGF-1 jako určité pojítko mezi postnatálním energetickým příjmem a příjmem makronutrientů a antropometrickými parametry v 10 letech.

#### Zkratky

BMI – body mass index

IGF-1 – insulin-like growth factor-I

#### LITERATURA

1. **Rolland-Cachera, M. F., Deheeger, M., Akrou, M., Bellisle, F.:** Influence of macronutrients on adiposity development: a follow up study of nutrition and growth from 10 months to 8 years of age. *Int. J. Obes.*, 1995, 19, s. 573-578.
2. **Pařízková, J., Rolland-Cachera, M. F.:** High proteins early in life as a predisposition for later obesity and further health risks. *Nutrition*, 1997, 13, s. 818-819.
3. **Heinig, M. J., Nommsen, L. A., Peerson, J. M. et al.:** Energy and protein intakes of breast-fed and formula-fed infants during the first year of life and their association with growth velocity: the DARLING study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1993, 58, s. 152-161.
4. **Dewey, K. G.:** Is breastfeeding protective against child obesity? *J. Hum. Lact.*, 2003, 19, s. 9-18.
5. **Von Kries, R., Koletzko, B., Sauerwald, T. et al.:** Breast feeding and obesity: cross-sectional study. *Br. Med. J.*, 1999, 319, s. 147-150.
6. **Dewey, K. G., Heinig, M. J., Nommsen, L. A. et al.:** Breast-fed infants are leaner than formula-fed infants at 1y of age: the DARLING study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1993, 57, s. 140-145.
7. **Li, C., Kaur, H., Choi, W. S. et al.:** Additive interactions of maternal prepregnancy BMI and breast-feeding on childhood overweight. *Obes. Res.*, 2005, 13, s. 362-370.
8. **Bogen, D. L., Hanusa, B. H., Whitaker, R. C.:** The effect of breast-feeding with and without formula use on the risk of obesity at 4 years of age. *Obes. Res.*, 2004, 12, s. 1527-1535.
9. **Scaglioni, S., Agostoni, C., Notaris, R. D. et al.:** Early macronutrient intake and overweight at five years of age. *Int. J. Obes.*, 2000, 24, s. 777-781.
10. **Koletzko, B., Broekaert, I., Demmelmair, H. et al.:** Protein intake in the first year of live: a risk factor for later obesity? The E. U. childhood obesity project. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2005, 569, s. 69-79.
11. **Hainer, V., Černá, M., Kunešová, M. et al.:** Early postnatal nutrition in preterm infants and their anthropometric characteristics in later life. *Int. J. Obes.*, 1999, 23 (Suppl. 5), s. S45.
12. **Fryburg, D. A.:** Insulin-like growth factor I exerts growth hormone- and insulin-like actions on human muscle protein metabolism. *Am. J. Physiol.*, 1994, 267, s. E331-336.
13. **Fryburg, D. A., Jahn, L. A., Hill, S. A. et al.:** Insulin and insulin-like growth factor-I enhance human skeletal muscle protein anabolism during hyperaminoacidemia by different mechanism. *J. Clin. Invest.*, 1995, 96, s. 1722-1729.
14. **Le Roith, D., Scavo, L., Butler, A.:** What is the role of circulating IGF-I? *Trends Endocrinol. Metab.*, 2001, 12, s. 12-52.
15. **Stunkard, A. J., Sorensen, T. I., Hanis, C. et al.:** An adoption study of human obesity. *N. Engl. J. Med.*, 1986, 314, s. 193-198.
16. **Savva, S. C., Kourides, Y., Epiphaniou-Savva, M. et al.:** Short-term predictors of overweight in early adolescence. *Int. J. Obes.*, 2004, 28, s. 451-458.
17. **Toschke, A. M., Vignerova, J., Lhotska, L. et al.:** Overweight and obesity in 6- to 14- year-old Czech children in 1991: protective effect of breast-feeding. *J. Pediatr.*, 2002, 141, s. 764-769.
18. **Michelsen, K. F., Hoppe, C., Molgaard, C., Juul, A.:** Protein intake in infancy is related to body size, but not to adiposity in 10-year-old children. *Ann. Nutr. Metab.*, 2001, 45 (Suppl. 1), s. 237.
19. **Wauben, I., Westerterp, K., Gerver, W. J., Blanco, C.:** Effect of varying protein intake on energy balance, protein balance and estimated weight gain composition in premature infants. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1995, 49, s. 11-16.
20. **Stettler, N., Stallings, V. A., Troxel, A. B. et al.:** Weight gain in the first week of life and overweight in adulthood: a cohort study of european american subject fed infant formula. *Circulation*, 2005, 111, s. 1897-1903.
21. **Stettler, N., Kumanyika, S. K., Katz, S. H. et al.:** Rapid weight gain during infancy and obesity in young adulthood in a cohort of African Americans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2003, 77, s. 1374-1378.

Podpořeno grantem Institutu Danone a grantem IGA NR7800-4.

## PŮVODNÍ PRÁCE

# Vztahy mezi faktory „Dotazníku jídelních zvyklostí“, socioekonomickým stavem, antropometrickými ukazateli akumulace tuku a zdravotními riziky u české populace

Wagenknecht M., Hainer V., Kunešová M., <sup>1</sup>Bellisle F., Pařízková J.,  
Braunerová R., Hill M., <sup>2</sup>Lajka J.

*Endokrinologický ústav, Praha*

<sup>1</sup>*INRA Hotel Dieu, Paříž, Francie*

<sup>2</sup>*Stem/Mark – Centrum sociologických a empirických studií, Praha*

## ABSTRAKT

**Východisko.** Cílem práce bylo porovnat a zhodnotit psychologické charakteristiky jídelního chování hodnocené trojsložkovým dotazníkem jídelních zvyklostí Eating Inventory (EI) s antropometrickými, zdravotními a sociálními charakteristikami ve vzorku populace českých žen a mužů.

**Metody a výsledky.** Vzorek zahrnoval 1624 žen a 1429 mužů, kteří byli jednotlivě dotazováni vyškolenými konzultanty. Vzorek populace byl kvótní s ohledem na pohlaví, věk, velikost místa bydliště, region, vzdělání a socioekonomický stav. Konzultanti získávali antropometrická data, socioekonomické informace a informace o životním stylu respondentů. Respondenti sami vyplnili dotazník EI. Zdravotní stav respondentů byl hodnocen podle údajů ošetřujících lékařů. Výsledky ukázaly, že ženy mají vyšší skóre restrikce, ale nižší skóre disinhibice a hladu než muži. Ve zpětné regresní krokové analýze se uplatnily v predikci body mass indexu (BMI) i obvodu pasu jak skóre dietní restrikce, tak skóre dietní disinhibice EI. BMI a obvod pasu negativně korelovaly s restrikcí a pozitivně s disinhibicí. Hlad a disinhibice prokazovaly vždy silnou vzájemnou provázanost. Restrikce byla u obou pohlaví v negativním vztahu s hladem, ale u mužů i s disinhibicí. U obou pohlaví stupeň vzdělání pozitivně koreloval s dietní restrikcí a negativně se skórem hladu. Významná negativní korelace mezi stupněm vzdělání a disinhibicí však byla prokázána pouze u mužů. Jedinci s vysokým skóre disinhibice (horní kvartil) vykazovali ve srovnání s jedinci s nízkým skóre disinhibice (dolní kvartil) vyšší výskyt hypertenze, kardiovaskulárních chorob a hyperdyslipidémie, a to u obou pohlaví. Tyto rozdíly byly nejvíce vyjádřeny u osob středního věku.

**Závěry.** Psychologické charakteristiky jídelního chování hrají významnou úlohu při zmnožení tukové tkáně. Především disinhibice je významným způsobem spojena s vyšší BMI a obvodem pasu a s výskytem některých kardiometabolických onemocnění.

**Klíčová slova:** Eating Inventory, restrikce, disinhibice, hlad, BMI, obvod pasu, komorbidita.

## ABSTRACT

*Wagenknecht M., Hainer V., Kunešová M. et al.: Relationships Between the „Eating Inventory“ Factors, Socioeconomic Status, Anthropometric Body Adiposity Indexes and Health Risks in Czech Population*

**Background.** The aim of the study was to compare and evaluate psychological traits of eating behaviour assessed using the Eating Inventory (EI) known also as the Three Factor Eating Questionnaire (TFEQ) and their relationship to body adiposity, health and social characteristic in a quota sample of Czech adults.

**Methods and Results.** The sample included 1624 women and 1429 men who were interviewed individually by instructed investigators. The sample was quota representative – for gender, age, size of residential location, region and socioeconomic status in Czech adults. Anthropometric data were obtained together with socioeconomic and lifestyle information. Subjects filled out the EI. Health status was evaluated according to the data reported by GPs. Our results show, that women had higher restraint but lower disinhibition and hunger scores than men. Hunger and disinhibition were always strongly associated, whereas restraint was negatively related to the other two factors in men, and to hunger in women. In both men and women an educational level positively correlated with dietary restraint and negatively with hunger. However, significant negative relationship between educational level and disinhibition was revealed only in men. In backward stepwise regression analysis both dietary restraint and disinhibition predicted BMI and waist circumference. BMI and waist circumference were negatively related to restraint, but positively to disinhibition. Restraint and disinhibition were associated with prevalence of comorbidities in men, while disinhibition and hunger were in women. Individuals with high scoring in disinhibition score (upper quartile) exhibited significantly higher prevalence of



hypertension, cardiovascular diseases and hyperlipidaemia than those who scored low (lower quartile). These relationships were most marked in middle-aged subjects.

**Conclusions.** Psychological traits of eating behaviour seem to have an important role in the development and clinical expression of body adiposity. Especially disinhibition is significantly associated with BMI and waist circumference and prevalence of several pathologies.

**Key words:** Eating Inventory, dietary restraint, disinhibition, body mass index, waist circumference, comorbidities. Wa.

*Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 284–291.*

**P**psychologické charakteristiky se významně spolupodílejí na regulaci tělesné hmotnosti. Regulace tělesné hmotnosti je složitě multifaktoriálně podmíněna, a to jak genetickými faktory, tak sociokulturními faktory zevního prostředí a svobodnou vůlí jedince.

K posouzení psychologických charakteristik jídelního chování se používá dotazník jídelních zvyklostí Stunkarda a Mesticka (1) – Three Factor Eating Questionnaire (TFEQ), někdy též označovaný jako Eating Inventory (EI). EI hodnotí pomocí tří faktorů charakteristiky regulace jídelního chování a míru výskytu přidružené patologie (2, 3). Jednotlivé faktory postihují: 1. restrikcí – míru aktivní kontroly nad příjmem potravy, úmyslného sebeovládání, vědomého omezování příjmu potravy; 2. disinhibičích – míru překračování subjektivních limitů pro příjem potravy, narušení schopnosti plně si uvědomovat a udržet kontrolu nad příjmem potravy, ztrácení zábrán při konzumaci potravy; 3. hladu – míru vnímavosti k pocitům fyziologického hladu a náchylnosti ke hladu. Dotazník EI našim podmínkám přizpůsobili a standardizovali V. Hainer s M. Kunešovou (4).

Restrikcí v dotazníku EI charakterizují například následující způsoby jídelního chování: uvědomovaná a pomalá konzumace stravy, vědomé omezování množství potravy i přes pocit hladu, zájem o svou tělesnost, hlídání a udržování si hmotnosti, znalost a počítání energetické hodnoty přijímané potravy, cílevědomé nakupování vhodných potravin atp. Restrikce je oproti následujícím faktorům, vzhledem ke své orientaci na záměrné volní jednání, nejméně podmíněná biologickými faktory včetně dědičnosti. Disinhibičích naproti tomu představuje chování, jako je např.: hltavé, překotné jedení, neschopnost přestat jíst a odolat pokušení i přes pocit nasycenosti, zvýšená kontrola v přítomnosti druhých a zároveň jedení bez zábrán o samotě nebo naopak přejídání se při společenských příležitostech, používání jídla pro oddálení bezprostředně nepříjemných pocitů (smutku, osamělosti, strachu atp.). Kolísání disinhibičích se může projevat v různém časovém horizontu, s delšími epizodami jako „jo-jo“ fenomén a s kratšími epizodami jako záchvatovitě přejídání („binge-eating“). Ztrácení zábrán může nasedat i na obecnější psychickou nerovnováhu, může být součástí stresových, depresivních, úzkostných a závislých stavů (5–7). Disinhibičích je také oproti restrikcí spojena s častější konzumací potravin s vyšším obsahem tuků a cukrů. Skóre hladu postihuje v jídelním chování frekvenci a intenzitu potřeby jíst, schopnost ponechat jídlo při pocitu nasycení aj.

Při ovlivňování jídelního chování se snažíme navodit zvýšení restrikcí a snížení disinhibičích. Ke zvýšení restrikcí slouží například pravidelné záznamy o konzumaci potravy, rozpis diety, kognitivně-behaviorální techniky aj. Ke snížení disinhibičích mohou napomoci: psychoterapie, techniky posilo-

vání vůle, psychofarmaka a některá antiobezitika (8). Sibutramin ve svém účinku ovlivňuje v centrální nervové soustavě (CNS) centra sytosti a „chuti“ (v širším slova smyslu – podobně jako některá antidepresiva ovlivňují „chuť do života“) a zároveň brání poklesu energetického výdeje. Studie, které sledovala změnu jídelního chování během léčby sibutraminem, ukázala souvislost poklesu hmotnosti se vzestupem skóre restrikcí a poklesem skóre disinhibičích (9).

Dotazník EI byl použit i v mnoha dřívějších zahraničních studiích. Ty přinesly zajímavé souvislosti mezi hodnotami skóre dotazníku EI a různým prospěšným či škodlivým jídelním chováním mezi zdravými a nemocnými v mnoha zemích světa (10–17). Studie ukázaly, že zvýšená restrikce je spojena s nižší tělesnou hmotností, úspěchem při redukci a udržení hmotnostního úbytku váhy (15–18). Restrikce je také v přímé souvislosti s výskytem poruch jídelního chování (12, 13) a konzumací pod vlivem stresu (14). Disinhibičích se rozhodujícím způsobem podílí na snížené kontrole tělesné hmotnosti a následném nárůstu hmotnosti (15) stejně i při záchvatovitě přejídání (2).

Opomíjenou otázkou v uvedených studiích je vliv jednotlivých faktorů EI na výskyt onemocnění provázejících obezitu a souvisejících se způsobem výživy a jídelním chováním. Obezitu, zvláště pak abdominální, provází celá řada zdravotních komplikací zahrnující metabolické, kardiovaskulární, onkologické, ortopedické a další komplikace. V naší současné studii jsme se zaměřili: 1. na úlohu faktorů EI v predikci BMI a obvodu pasu, 2. na ověření vztahu jednotlivých faktorů EI k socioekonomickým ukazatelům a 3. na výskyt vybraných onemocnění (hypertenze, kardiovaskulárních chorob zahrnujících ischemickou chorobu srdeční a cerebrovaskulární nemoci, diabetes mellitus, hyperlipidémie nebo dyslipidémie, dny, degenerativních onemocnění kloubů a páteře) v souvislosti s vyšší skóre jednotlivých faktorů EI.

## SOUBOR NEMOCNÝCH A POUŽITÉ METODY

Studie byla provedena na skupině dospělé populace českých žen a mužů starších 18 let. Zkoumaná skupina se zúčastnila předchozích průzkumů, které zjišťovaly zdravotní stav spolu s různými charakteristikami české populace. Vybraný reprezentativní vzorek zahrnoval 1624 žen a 1429 mužů z různých oblastí celé České republiky. Jako kritéria pro výběr účastníků byla stanovena: pohlaví, věk, velikost místa bydliště, region, vzdělání, socioekonomická úroveň, rodinný stav. Tento vzorek nebylo nutno statisticky dovažovat. Respondenti písemně potvrdili svůj souhlas s účastí ve studii, která byla schválena Etickou komisí Centra pro sociologické a empirické studie.

**Sběr dat**

Tazatelé získávali údaje formou osobních rozhovorů a dotazníků. Rozhovor s účastníky šetření probíhal vždy individuálně. Získaná antropometrická data zahrnovala věk, hmotnost a výšku obvod pasu. BMI byl vypočítán z udaných hodnot hmotnosti a výšky ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ). Obvod pasu, jako ukazatel míry zmožení abdominálního tuku, byl měřen podle doporučení WHO v horizontální čáře uprostřed vzdálenosti mezi spina iliaca ant. sup. a dolním okrajem žeber.

Součástí rozhovorů bylo vyplňování dotazníků. Anamnestický dotazník se týkal osobních údajů, dosažené úrovně vzdělání (posuzováno pět stupňů) a průměrného příjmu na hlavu (zvažováno pět platových kategorií). Dotazník rovněž zmapoval současné stravovací zvyklosti (aktuální dodržování diety), dosavadní vývoj tělesné hmotnosti v průběhu života (např. pokusy o snížení váhy) a rodinnou anamnézu v souvislosti s obezitou. Dále byl vyhodnocován dotazník EI. Zdravotní stav respondentů byl hodnocen na základě údajů ošetřujících lékařů. Diagnostická kritéria pro hypertenzi, kardiovaskulární choroby (KVCH), hyper- a dyslipidémii a diabetes mellitus byla v souladu s mezinárodními doporučeními pro dia-

**Tab. 1.** Charakteristika vzorku českých žen a mužů

	<b>Muži</b> (průměr + SD)	<b>ženy</b> (průměr + SD)	<b>p&lt;</b>
počet	1429	1624	
věk (roky)	40,5+14,8	41,9+14,8	0,01
váha (kg)	82,9+12,7	68,3+13,0	0,001
výška (cm)	178,5+7,5	166,0+6,4	0,001
BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	26,04+3,84	24,83+4,80	0,001
obvod pasu (cm)	91,3+12,5	81,1+14,2	0,001
skóre restrikce	4,31+3,86	8,21+5,15	0,001
skóre disinhibice	5,28+3,16	5,04+3,47	0,05
skóre hladu	5,06+3,55	3,66+3,20	0,001

Krajní hodnoty skóre jednotlivých faktorů dotazníku EI: restrikce (0 až 21 bodů), disinhibice (0 až 16 bodů), hlad (-1 až 13 bodů) SD – směrodatná odchylka

**Tab. 2.** Spearmanovy neparametrické korelace mezi úrovní BMI, obvodem pasu a hodnoty skóre EI u žen (dolní polovina vlevo) a mužů (horní polovina vpravo)

	<b>BMI</b>	<b>pas</b>	<b>RES</b>	<b>DIS</b>	<b>hlad</b>	<b>příjem</b>	<b>vzdělání</b>
<b>BMI</b>	<b>1,000</b>	0,727**	0,101**	0,207**	0,076**	0,059	-0,007
<b>pas</b>	0,835**	<b>1,000</b>	0,048	0,147**	0,051	0,003	0,022
<b>RES</b>	0,046	0,004	<b>1,000</b>	-0,137**	-0,278**	-0,006	0,085**
<b>DIS</b>	0,282**	0,226**	-0,043	<b>1,000</b>	0,664**	0,045	-0,060**
<b>hlad</b>	0,137**	0,129**	-0,251**	0,625**	<b>1,000</b>	0,059	-0,123**
<b>příjem</b>	0,008	-0,014	0,042	0,005	0,033	<b>1,000</b>	0,134**
<b>vzdělání</b>	-0,183**	-0,199**	0,085**	-0,033	-0,063**	0,141**	<b>1,000</b>

\*\*  $p < 0,01$ , BMI – body mass index, RES – restrikce, DIS – disinhibice

gnostiku, prevenci a léčbu těchto onemocnění, jak byla shrnuta odbornými společnostmi České lékařské společnosti (19).

**Statistická analýza**

Statistická analýza byla provedena za účelem odhalení spojitosti mezi třemi faktory dotazníku EI spolu s vyšší BMI a obvodem pasu, vlivem životního stylu a zdravotními riziky. K tomuto účelu byl použit počítačový software SPSS 10. Pro zhodnocení rozdílů mezi pohlavími byla použita ANOVA. Zpětná kroková regresní analýza byla použita k odhalení nejvhodnějších prediktorů BMI a obvodu pasu jako závislých proměnných. Pro porovnání významnosti prevalence daných chorob mezi různými kategoriemi zkoumaných osob bylo využito  $\chi^2$  testu. Tyto kategorie byly definovány na základě věku (15–29 let, 30–44 let, 45–59 let, nad 60 let). Výskyt zdravotních rizik byl porovnáván u zkoumaných osob s vysokým a nízkým skóre ve třech faktorech EI (hodnoty horních nebo dolních kvartilů). Spearmanových korelací bylo použito pro zjištění souvislosti mezi faktory EI a socioekonomickými ukazateli. Úroveň statistické významnosti byla stanovena na 0,05.

**VÝSLEDKY**

Základní charakteristiky sledovaného vzorku jsou shrnuty v tabulce 1, která ukazuje významné rozdíly mezi pohlavími ve všech sledovaných antropometrických parametrech a ve vyšší skóre jednotlivých faktorů EI.

**Tab. 3.** Zpětná kroková regresní analýza predikce BMI ( $r^2 = 0,349$ )

<b>proměnná</b>	<b>Závislá proměnná: -(BMI<sup>-0,6</sup>)</b>			
	<b>hodnota</b>	<b>SE</b>	<b>t</b>	<b>p</b>
intercept	-0,1459	0,0072	-20,20	0,0001
pohlaví (muži/ženy)	-0,0062	0,0015	-4,20	0,0001
věk <sup>0,5</sup>	0,0051	0,0006	9,05	0,0001
obezita u rodičů	0,0037	0,0012	3,00	0,0029
(restrikce+0,1) <sup>0,4</sup>	-0,0032	0,0011	-2,84	0,0048
(disinhibice+0,1) <sup>0,5</sup>	0,0026	0,0009	2,93	0,0036
pokusy o redukci hmotnosti	-0,0026	0,0013	-2,08	0,0379
aktuální				
dodržování diety	-0,0061	0,0015	-3,99	0,0001
úroveň vzdělání	-0,0016	0,0005	-3,52	0,0005

R=0,582,  $p < 0,0001$ , SE – standardní chyba průměru, t – t-test

Tabulka 2 přináší porovnání jak vzájemných korelací jednotlivých faktorů EI, tak i porovnání těchto faktorů se socioekonomickým stavem posuzovaným podle stupně vzdělání a průměrné výše platu. Restrikce negativně korelovala se skóre hladu u obou pohlaví, ale u mužů také s disinhibicí. U obou pohlaví stupeň vzdělání pozitivně koreloval s dietní restrikcí a negativně se skóre hladu. Signifikantní negativní korelace mezi stupněm vzdělání a disinhibicí byla proká-

**Tab. 4.** Zpětná kroková regresní analýza predikce obvodu pasu ( $r^2=0,417$ )

proměnná	Závislá proměnná: log (pas)			
	hodnota	SE	t	p
intercept	4,5198	0,0792	57,09	0,0001
pohlaví (muži/ženy)	-0,1383	0,0161	-8,60	0,0001
věk <sup>0,5</sup>	0,0616	0,0062	9,94	0,0001
obezita u rodičů	0,0338	0,0134	2,53	0,012
(restrikce+0,1) <sup>0,4</sup>	-0,0336	0,0122	-2,74	0,0064
(disinhibice+0,1) <sup>0,5</sup>	0,0209	0,0095	2,19	0,029
pokusy o redukci hmotnosti aktuální	-0,0395	0,0137	-2,88	0,0041
dodržování diety	-0,0417	0,0167	-2,50	0,013
úroveň vzdělání	-0,0185	0,0052	-3,57	0,0004
příjem	-0,0108	0,0054	-2,02	0,0444

R=0,582, p<0,0001, SE – standardní chyba průměru, t – t-test

u obou pohlaví, pro různé věkové kategorie, porovnáváním nejvyšších a nejnižších hodnot skóre faktorů EI (horních a dolních kvartilů). Tabulka 5 ukazuje vyšší výskyt hypertenze a hyperlipidémie ve spojení s vysokou hodnotou skóre disinhibice u obou pohlaví a vysokým skóre hladu u žen. Na rozdíl od žen byla v celém souboru mužů restrikce spojena s vyšší prevalencí hypertenze, KVCH, diabetes mellitus a hyper/dyslipidémie. V tabulce 6 jsou hodnoty pro věkovou kategorii středního věku (33–44 let). Pouze u mužů středního věku bylo navíc vyšší skóre restrikce spojeno s častějším výskytem diabetes mellitus (data nejsou uvedena v tabulce). Vysoké skóre disinhibice je u obou pohlaví ve středním věku spojeno se signifikantně vyšším rizikem výskytu hypertenze, KVCH a hyper/dyslipidémie. Vysoké skóre hladu ovlivnilo všechna uváděná zdravotní rizika u žen středního věku. Oproti tomu nebyla nalezena žádná významná spojitost mezi vysokým skórem restrikce a výskytem daných chorob u žen jako celku (tab. 5) ani v kategorii žen středního věku (tab. 6).

**Tab. 5.** Prevalence onemocnění (%) mužů a žen charakterizované podle vysokého anebo nízkého skóre v jednotlivých faktorech dotazníku EI (horní vs. dolní kvartil)

Restrikce		muži		ženy		
onemocnění	horní kvartil	dolní kvartil	stupeň rizika	stupeň rizika	dolní kvartil	stupeň rizika
hypertenze	37,1	19,1	1,94***	22,5	20,7	1,10
KVCH	20,8	8,6	2,42***	13,3	10,0	1,33
Hyperlipidémie	26,8	16,3	1,64**	20,1	18,7	1,07
Disinhibice		muži		ženy		
onemocnění	horní kvartil	dolní kvartil	stupeň rizika	horní kvartil	dolní kvartil	stupeň rizika
hypertenze	26,8	19,5	1,37*	32,9	18,0	1,83***
KVCH	14,3	11,6	1,23	15,6	11,9	1,31
hyperlipidémie	26,8	14,0	1,91***	26,8	14,7	1,82***
Hlad		muži		ženy		
onemocnění	horní kvartil	dolní kvartil	stupeň rizika	horní kvartil	dolní kvartil	stupeň rizika
hypertenze	23,9	21,6	1,11	32,3	20,5	1,58***
KVCH	13,7	11,9	1,15	14,0	12,7	1,10
hyperlipidémie	21,6	16,8	1,29	25,3	17,3	1,46**

Stupeň rizika: prevalence onemocnění v horním kvartilu vs. prevalence onemocnění v dolním kvartilu.

\* p<0,05, \*\* p<0,01, \*\*\* p<0,001, KVCH – kardiovaskulární choroby

zána pouze u mužů. U obou pohlaví nebyla prokázána významná souvislost mezi výší příjmu a výší skóre jednotlivých faktorů EI.

Zpětná kroková regresní analýza prokázala, že skóre restrikce a skóre disinhibice jsou významnými prediktory BMI spolu s pohlavím, věkem, obezitou u rodičů, počtem pokusů o redukci hmotnosti, aktuálním hladověním a úrovní vzdělání (tab. 3). Obdobné faktory predikují spolu s výší příjmu i obvod pasu (tab. 4).

Stupeň relativního rizika výskytu nemoci byl definován jako podíl prevalence onemocnění zjištěné u jedinců s BMI  $\geq 25$  oproti jedincům s BMI  $< 25$ . Zjištěné relativní riziko u osob s nadváhou a obezitou bylo pro: diabetes mellitus 3,8; dnu 3,4; hypertenzi 3,1; hyperlipidémii 2,8; kardiovaskulární choroby 2,6 a pro degenerativní onemocnění kloubů a páteře 1,7.

Zjišťovali jsme souvislosti mezi hodnotami skóre jednotlivých faktorů EI a výskytem vybraných onemocnění

## DISKUZE

Hlavním cílem studie bylo zjistit, zda nějakým významným způsobem spolu souvisí jídelní chování zhodnocené pomocí dotazníku EI s mírou zmnožení tělesného tuku a výskytem zdravotních komplikací. Studie přinesla mnoho spojitostí mezi jednotlivými parametry, ale bylo jen velmi obtížné stanovit příčinné souvislosti.

Ve všech sledovaných parametrech se ukázaly rozdíly mezi pohlavími. Rozdílnost byla vysoce významná jak pro skóre restrikce a hladu, tak i pro skóre disinhibice. V šetření se ve shodě s podobnými studiemi ukázalo, že zvažované zdravotní komplikace velmi těsně souvisí s výší BMI (20). Nepřítomnost významné korelace mezi skórem restrikce a úrovní BMI u žen zřejmě naznačuje, že ženy udávají dietní restrikci bez ohledu na míru své nadváhy. U mužů může být spojitost restrikce s úrovní BMI spíše výslednou reakcí na nadváhu. Vysvětlujeme si to tím, že ženy jsou vystaveny

**Tab. 6.** Prevalence onemocnění (%) mužů a žen ve středním věku (30–44letí) charakterizované podle vysokého anebo nízkého skóre v jednotlivých faktorech dotazníku EI (horní vs. dolní kvartil)

<b>Restrikce</b>						
	<b>muži</b>			<b>ženy</b>		
	horní kvartil	dolní kvartil	stupeň rizika	horní kvartil	dolní kvartil	stupeň rizika
onemocnění	n=104	n=106		n=22	n=114	
hypertenze	23,1	11,3	2,04*	9,0	11,6	0,78
KVCH	8,7	2,9	3,00*	5,2	8,5	0,61
hyperlipidémie	22,1	9,7	2,28*	11,2	8,6	1,30
<b>Disinhibice</b>						
	<b>muži</b>			<b>ženy</b>		
	horní kvartil	dolní kvartil	stupeň rizika	horní kvartil	dolní kvartil	stupeň rizika
onemocnění	n=111	n=135		n=129	n=110	
hypertenze	26,1	13,3	1,96*	22,7	4,7	4,83***
KVCH	9,9	3,0	3,30*	10,0	3,1	3,23*
hyperlipidémie	25,5	7,4	3,45***	21,8	4,7	4,64***
<b>Hlad</b>						
	<b>muži</b>			<b>ženy</b>		
	horní kvartil	dolní kvartil	stupeň rizika	horní kvartil	dolní kvartil	stupeň rizika
onemocnění	n=107	n=116		n=124	n=125	
hypertenze	24,3	12,9	1,88*	19,4	8,8	2,20*
KVCH	8,4	4,3	1,95	10,5	3,2	3,28*
hyperlipidémie	22,4	10,3	2,17	16,3	8,0	2,04*

Stupeň rizika: prevalence onemocnění v horním kvartilu vs. prevalence onemocnění v dolním kvartilu.

\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , KVCH – kardiovaskulární choroby

většimu společenskému a mediálnímu tlaku na štíhlost a držení diety bez ohledu na míru své nadváhy (21, 22). To je ve shodě s výsledky Hayse et al. (23), které uvádí, že skóre restrikce u dospělých žen nevypovídá o jejich současné váze. Ve většině dosavadních studií bylo vyšší skóre restrikce asociováno s nižší tělesnou váhou (24–26), lepšími výsledky při snižování tělesné hmotnosti a následného udržení hmotnostního poklesu (15, 16). Podle Westenhoefera et al. (17) je záměrné snižování hmotnosti spojené s „flexibilní kontrolou“ jako složkou dietní restrikce, která odpovídá za správné udržování si váhy a přispívá ke snížení míry abdominálního tuku u obou pohlaví.

U obou pohlaví stupeň vzdělání pozitivně koreloval s dietní restrikcí a negativně se skóre hladu. Svědčí to pro to, že uvědomělé omezování příjmu potravy souvisí s obecnou úrovní vzdělanosti, která zřejmě zahrnuje i větší vědomosti v oblasti zdravé výživy. Přes omezování příjmu potravy se v závislosti na vzdělanosti nezvyšuje, ale naopak snižuje skóre hladu. Významná negativní korelace mezi stupněm vzdělání a disinhibicí byla prokázána pouze u mužů, což znamená, že muži s vyšším vzděláním na rozdíl od žen by měli mít větší šanci udržovat svoji hmotnost nezávisle na podnětech, jako jsou stresy, úzkost a deprese, které indukují jídelní chování charakteru disinhibice. Jak u mužů, tak u žen nebyla prokázána významná souvislost mezi vyšší příjmu a vyšší skóre jednotlivých faktorů EI, i když podle očekávání výše příjmu signifikantně souvisela s vyšší vzděláním. V návaznosti na ekonomický rozvoj české společnosti zřejmě převzala úroveň vzdělanosti dominující úlohu při ovlivňování jídelního chování. Údaje o tom, jak se uplatňuje výše příjmu při ovlivňování faktorů EI v ekonomicky méně rozvinutých zemích, nejsou pro porovnání k dispozici.

Studie odhalila významnou pozitivní korelaci mezi vyšší skóre hladu a disinhibicí, kterou již dříve potvrdili Westenhoefer (27) a Williamson (3). Zpětná kroková regresní ana-

lyza prokázala, že disinhibice významně pozitivně asociuje s úrovní BMI, představující míru nadváhy, a s výší obvodu pasu jakožto ukazatele akumulace abdominálního tuku v těle. Tyto výsledky jsou ve shodě s dříve publikovanými závěry Hayse et al. (23), Teppera a Ullricha (28), Westenhoefera et al. (29) a Williamsona et al. (3). Disinhibice se ukázala jako nejzávažnější faktor dotazníku EI, který nezávisle rozlišuje obézní a neobézní ženy (30). Výsledky tak ukazují na provázanost mezi mírou tělesného tuku v těle a rysy jídelního chování, měřenými dotazníkem EI. Disinhibice se jeví jako silný faktor ovlivňující negativně schopnost udržet tělesnou hmotnost. Signifikantně vyšší skóre disinhibice a hladu bylo již dříve shledáno ve skupině těžce obézních žen v porovnání s kontrolní skupinou normálně vážících žen (4). Význam vlivu jednotlivých faktorů dotazníku EI při snižování hmotnosti bylo sledováno vedle skóre deprese a nutričních faktorů v české studii STO (Sibutramine in the Treatment of Obesity) prováděné u obézních žen. Snížení skóre disinhibice bylo z řady sledovaných nutričních a psychologických ukazatelů jediným korelátorem výše hmotnostního poklesu při 12měsíční léčbě antiobezitikem sibutraminem. Snížení skóre disinhibice napomáhá udržení hmotnostního poklesu, příznivě ovlivňuje hromadění abdominálního tuku a s tím spojená zdravotní rizika (9).

Výsledky prokazují v kvótním vzorku české populace platnost jednotlivých faktorů dotazníku při predikci výskytu zdravotních komplikací. Nejvíce je to patrné na skupině žen a mužů středního věku pro skóre disinhibice, kde se několikaobně zvyšuje relativní stupeň rizika rozvoje hyperlipidémie, hypertenze a KVCH. V jednotlivých položkách dotazníku se ukázaly rozdíly mezi pohlavími. U mužů byly vyšší hodnoty skóre restrikce a disinhibice asociovány s vyššími zdravotními riziky, zatímco u žen zvýšené zdravotní riziko predikovaly vyšší hodnoty skóre disinhibice a hladu. Míra komplikací je částečně zprostředkována úrovní BMI, otázkou ovšem zůstává, jaké jsou vlastně základní mecha-

nizmy a příčinné souvislosti mezi mírou zmnožení tělesného tuku, výskytem zdravotních komplikací a způsobem příjmu potravy.

Jídelní chování charakterizované disinhibicí je zásadně spojeno s ukazateli abdominální obezity a vyšším stupněm rizika výskytu kardiovaskulárních onemocnění, především hypertenze, a metabolických komplikací v podobě hyper/dyslipidémie. Již dříve bylo prokázáno, že disinhibice je významně svázána s aktuálním stavem psychických sil a celkovou psychickou vyladěností (5–7). Disinhibice ve svém působení vnáší do jídelního chování v podstatě výrazné negativní projevy vedoucí od neschopnosti udržet si stabilní váhu či dosáhnout hmotnostního poklesu, až k vážné jídelní patologii. Naše studie to potvrzuje množstvím prokázaných významných souvislostí. Na rozdíl od některých dřívějších studií nepotvrdilo šetření přímou pozitivní souvislost dietní restrikce s disinhibicí. U restrikce není účinek působení tak jednoznačný, přináší jak některé prospěšné, tak i některé rizikové charakteristiky jídelního chování, což je patrné zvláště u žen. Potvrdilo se, že tento vcelku jednoduchý dotazník je citlivým psychometrickým nástrojem k rozpoznání osobnostních a zdravotních rizik spojených s určitým typem nutričního chování, který je schopný predikovat míru hmotnostního poklesu a jeho setrvávání. Postižením rozhodujících dimenzí nutričního chování jedince napomáhá v orientaci a přináší důležitá vodítka ke správné volbě léčebné intervence. Zhodnocení jídelních zvyklostí dotazníkem EI by se rozhodně mělo stát součástí strategie při ovlivňování jídelního chování pacientů, při snižování nadváhy a prevenci vzniku onemocnění spojených s výživou.

Do budoucna bude třeba odhalit další faktory, které ovlivňují nevhodné jídelní chování typu dietní disinhibice včetně objasnění role faktorů genetických (31).

#### Zkratky

BMI	– index tělesné hmotnosti (body mass index)
CNS	– centrální nervová soustava
EI	– Eating Inventory
KVCH	– kardiovaskulární choroby
TFEQ	– Three Factor Eating Questionnaire

#### LITERATURA

1. **Stunkard, A. J., Messick, S. M.:** The three-factor eating questionnaire to measure dietary restraint, disinhibition and hunger. *J. Psychosom. Res.*, 1985, 29, s. 71-83.
2. **Lawson, O. J., Williamson, D. A., Champagne, C. M. et al.:** The association of body weight, dietary intake, and energy expenditure with dietary restraint and disinhibition. *Obes. Res.*, 1995, 3, s. 153-161.
3. **Williamson, D. A., Lawson, O. J., Brooks, E. R. et al.:** Association of body mass with dietary restraint and disinhibition. *Appetite*, 1995, 25, s. 31-41.
4. **Hainer, V., Kunešová, M., Pařízková, J. et al.:** Prevalence and causality of obesity in central and eastern Europe. In: Ailhaud, G., Guy-Grand, B. (eds.) *Progress in Obesity Research*. London, J. Libbey, 1999, s. 653-663.
5. **Baucom, D. H., Aiken, P. A.:** Effect of depressed mood on eating among nonobese dieting and nondieting persons. *J. Personal. Soc. Psychol.*, 1981, 41, s. 577-585.
6. **Herman, C. P., Polivy, J.:** Anxiety, restraint, and eating behavior. *J. Abn. Psychol.*, 1975, 84, s. 666-672.
7. **Polivy, J., Herman, C. P.:** Effects of alcohol on eating behavior, Influence of mood and perceived intoxication. *J. Abn. Psychol.*, 1976, 85, s. 601-606.
8. **Womble, L. G., Williamson, D. A., Greenway, F. L., Redmann, S. M.:** Psychological and behavioral predictors of weight loss during drug treatment for obesity. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2001, 25, s. 340-345.
9. **Hainer, V., Kunešová, M., Bellisle, F. et al. and STO Study Group:** Psychobehavioral and nutritional predictors of weight loss in obese women treated with sibutramine. *Int. J. Obes.*, 2005, 29, s. 208-216.
10. **Stunkard, A. J., Wadden, T. A.:** Restraint eating and human obesity. *Nutr. Rev.*, 1990, 48, 78-86.
11. **Canetti, L., Bachar, E., Berry, E. M.:** Food and emotion. *Behav. Processes*, 2002, 60, s. 157-164.
12. **Ruderman, A. J.:** Restraint, obesity, and bulimia. *Behav. Res. Ther.*, 1985, 23, s. 151-156.
13. **Wardle, J.:** Dietary restraint and binge eating. *Behav. Anal. Modif.*, 1990, 4, s. 201-209.
14. **Roemmich, J. N., Wright, S. M., Epstein, L. H.:** Dietary restraint and stress-induced snacking in youth. *Obes. Res.*, 2002, 10, s. 1120-1126.
15. **Bjorvell, H., Rossner, S., Stunkard, A. J.:** Obesity, weight loss and dietary restraint. *Int. J. Eat. Disord.*, 1986, 5, s. 727-734.
16. **Delahanty, L. M., Meigs, J. B., Hayden, D. et al.:** Psychological and behavioral correlates of baseline BMI in the Diabetes Prevention Program (DPP). *Diabetes Care*, 2002, 25, s. 1992-1998.
17. **Westenhofer, J., Stunkard, A. J., Pudel, V.:** Validation of the flexible and rigid control dimensions of dietary restraint. *Int. J. Eat. Disord.*, 1999, 26, s. 53-64.
18. **Westenhofer, J., von Falck, B., Stellfeldt, A., Fintelmann, S.:** Behavioural correlates of successful weight reduction over 3 y. Results from the Lean Habits Study. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2004, 28, s. 334-335.
19. **Cífková, R.:** Prevention of ischaemic heart disease in adults. Joint guidelines of Czech professional societies. *Diab. Metab. Endokrin. Vyz.*, 2001, 4, s. 13-27.
20. **Levy, E., Levy, P., Le Pen, C., Basdevant, A.:** The economic cost of obesity, the French situation. *Int. J. Obes.*, 1995, 19, s. 788-792.
21. **Fairburn, C. G., Welch, S. L., Doll, H. A. et al.:** Risk factors for bulimia nervosa. *Arch. Gen. Psych.*, 1997, 54, s. 509-517.
22. **Stice, E., Shaw, H. E.:** Role of body dissatisfaction in the onset and maintenance of eating pathology, a synthesis of research findings. *J. Psychosom. Res.*, 2002, 53, s. 985-993.
23. **Hays, N. P., Bathalon, G. P., McCrory, M. A. et al.:** Eating behavior correlates of adult weight gain and obesity in healthy women aged 55-65 y. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002, 75, s. 476-483.
24. **Foster, G. D., Wadden, T. A., Swain, R. M. et al.:** The Eating Inventory in obese women, clinical correlates and relationship to weight loss. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 1998, 22, s. 778-785.
25. **Grilo, C. M.:** On the relationship of attempting to lose weight, restraint, and binge eating in outpatients with binge eating disorder. *Obes. Res.*, 2000, 8, s. 638-645.
26. **McGuire, M. T., Jeffrey, R. W., French, S. A., Hannan, P. J.:** The relationship between restraint and weight and weight-related behaviors among individuals in a community weight gain prevention trial. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2001, 25, s. 574-580.

27. **Westenhofer, J.:** Dietary restraint and disinhibition, is restraint a homogeneous construct? *Appetite*, 1991, 16, s. 45-55.
28. **Tepper, B. J., Ullrich, N. V.:** Influence of genetic taste sensitivity to 6-n-propylthiouracil (PROP), dietary restraint and disinhibition on body mass index in middle-aged women. *Physiol. Behav.*, 2002, 75, s. 305-312.
29. **Westenhofer, J., Pudiel, V., Maus, N.:** Some restrictions on dietary restraint. *Appetite*, 1990, 14, s. 137-141.
30. **Lindroos, A. K., Lissner, L., Mathiassen, M. E. et al.:** Dietary intake in relation to restraint eating, disinhibition, and hunger in obese and nonobese Swedish women. *Obes. Res.*, 1997, 5, s. 175-182.
31. **Bouchard, L., Drapeau, V., Provencher, V. et al.:** Neuromedin B: a strong candidate gene linking eating behaviors and susceptibility to obesity. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004, 80, s. 1478-1486.

Práce byla podporována grantem MZ ČR a grantem IGA NR 7800-4.

Pracovní skupina pro dětskou pneumologii při výboru Pediatrické společnosti ČLS JEP  
pořádá dne 21. dubna 2007 v Kongresovém sále Nemocnice Na Homolce

## 7. celostátní konferenci dětské pneumologie

### Předběžný program:

Registrace od 8.00

**9 – 10.30 hod.** – Časná diagnostika asthma bronchiale

Principy a problémy diagnostiky průduškového astmatu v dětském věku.

Možnosti funkční diagnostiky plic u nespolupracujících dětí.

Diagnóza: Asthma bronchiale: Úskalí a chyby.

(prof. MUDr. Petr Pohunek, CSc., MUDr. Jarmila Turzíková, MUDr. Tamara Svobodová, CSc., MUDr. Jan Šulc, PhD, MUDr. Hana Janíčková)

**11–12.30 hod.** – Plicní projevy systémových a jiných orgánových onemocnění

Plicní projevy u systémových autoimunitních onemocnění.

Plicní projevy u systémových vaskulitid.

Postižení respiračního traktu u pacientů po onkologické léčbě.  
(doc. MUDr. Jozef Hoza, CSc., doc. MUDr. Pavla Doležalová, CSc., doc. MUDr. Petr Pohunek, CSc.)

**13.30–16 hod.** – Varia a kazuistiky

(program z došlých příspěvků pořádají doc. MUDr. František Kopriva, Ph.D., MUDr. Petr Honomichl)

Účastníci, jejichž aktivní příspěvek bude zařazen do programu, mají nárok na slevu na registračním poplatku.

Těšíme se na vás.

doc. MUDr. Jozef Hoza, CSc.,  
předseda Pediatrické společnosti ČLS JEP  
prof. MUDr. Petr Pohunek CSc.,  
předseda pracovní skupiny pro dětskou pneumologii  
MUDr. Helena Honomichlová, za organizační výbor konference

### PŘIHLÁŠKA

#### 7. konference dětské pneumologie

21. 4. 2007 v Kongresovém sále Nemocnice Na Homolce

### REGISTRACE:

Příjmení a jméno:		Tituly:	
Pracoviště:			
Ulice+č.:	Město:	PSČ:	
Tel.:	Fax:		
Mobil:	E-mail:		

Platby	úhrada do 15. 3. 2007	úhrada po 15. 3. 2007	úhrada na místě	poplatek při aktivní účasti	Účast		
registrační poplatek – člen ČLS JEP	400	450	500	-150	PASIVNÍ	ANO	NE
registrační poplatek – nečlen ČLS JEP	450	500	550	-100	AKTIVNÍ	ANO	NE

### \* Zakroužkujte jednu z možností.

Abstrakta příspěvků do sekce Varia zasílejte, prosím, do 15. 3. 2007 e-mailem na adresu s uvedením hesla „*Dětská pneumologie 07*“.

O přijetí příspěvku budete včas informováni.

### REGISTRAČNÍ POPLATEK UHRADÍM:

- složenkou  
 převodem z účtu  
(název, číslo) .....

na účet vedený u ČSOB, číslo účtu: 500617613/0300  
variabilní symbol : 257553

Prosíme o zaslání kopie o platbě registračního poplatku.

Pokud za vás hradí poplatek zaměstnavatel, žádáme vás o vypsání jména přihlášeného.

Místo, datum .....

Podpis .....

Prosíme, vyplňte a zašlete faxem  
na č.: +420 224 266 212 nebo na adresu:  
Česká lékařská společnost J. E. Purkyně,  
Sokolská 31, 120 26, Praha 2  
tel.: +420 224 266 223, e-mail: czma@cls.cz

## PŮVODNÍ PRÁCE

## Hladiny hormonů v plazme a v synovialnej tekutine kolenného klbu pri reumatoidnej artritíde

Macho L., <sup>1</sup>Rovenský J., Rádiková Z., Imrich R., <sup>1</sup>Greguška O., Vigaš M.

*Ústav experimentálnej endokrinológie SAV, Bratislava*

*<sup>1</sup>Národný ústav reumatických chorôb, Piešťany*

### ABSTRAKT

**Východisko.** Dysfunkcia endokrinného systému sa považuje za rizikový faktor vzniku reumatoidnej artritídy. Cieľom práce bolo vyšetrovanie hladín vybraných hormónov v plazme a v exudátoch kolenného klbu u pacientov s reumatoidnou artritídou alebo osteoartrózou, ktoré by mohli ovplyvňovať lokálny priebeh zápalu.

**Metódy a výsledky.** Vyšetřilo sa 39 pacientov s reumatoidnou artritídou (22 žien, 17 mužov) a 12 osôb s osteoartrózou (6 mužov a 6 žien). V plazme a v exudáte z kolena sa stanovili hladiny kortizolu, 17-beta estradiolu, progesterónu, dehydroepiandrosterónu, testosterónu, aldosterónu, prolaktínu, inzulínu a C-peptidu použitím radioimunologických súprav. V plazme pacientov s reumatoidnou artritídou sa v porovnaní s osteoartrózou zistili zvýšené hladiny 17-beta estradiolu a inzulínu. Plazmatické koncentrácie ostatných sledovaných hormónov sa signifikantne nelíšili. V zápalovom exudáte kolena reumatikov sa našli zvýšené hladiny 17-beta estradiolu, progesterónu a aldosterónu. Hladiny ostatných hormónov v exudátoch reumatikov a pacientov s osteoartrózou sa signifikantne nelíšili. Stanovenie pomeru hladín 17-beta estradiolu ku kortizolu resp. dehydroepiandrosterónu alebo testosterónu však ukázalo zvýšené podiely estrogénov nad androgénmi a glukokortikoidami v exudátoch reumatikov.

**Záver.** Výsledky ukázali, že nami sledované steroidné a peptidické hormóny sa dostávajú do exudátu kolenného klbu a po prvý raz bola popísaná prítomnosť inzulínu, aldosterónu a C-peptidu v synovialnej tekutine kolenného klbu. U reumatikov sa zistila výrazná prevaha hladín prozápalovo pôsobiacich estrogénov nad androgénmi, čo ukazuje, že estrogény môžu aj lokálnym pôsobením ovplyvňovať priebeh zápalového procesu.

**Kľúčové slová:** steroidné a peptidické hormóny, exudát kolena, reumatoidná artritída, osteoartróza.

### ABSTRACT

*Macho L., Rovenský J., Rádiková Z., Imrich R., Greguška O., Vigaš M.: Levels of Hormones in Plasma and in Synovial Fluid of Knee Joint of Patients with Rheumatoid Arthritis*

**Background.** Dysfunction of endocrine system is very likely one of the important risk factors involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. The aim of the present study was to investigate the levels of selected hormones in plasma and in synovial fluid of knee joint of patients with rheumatoid arthritis or with osteoarthritis, which could affect the inflammatory processes.

**Methods and Results.** Thirty nine patients with rheumatoid arthritis (22 females and 17 males) and 12 patients with osteoarthritis (6 females and 6 males) were investigated. Concentrations of the following hormones were determined in plasma and synovial fluids: cortisol, 17-beta-estradiol, progesterone, dehydroepiandrosterone, aldosterone, testosterone, prolactin, insulin and C-peptide by using radioimmunoassay kits. Increased levels of 17-beta-estradiol and insulin were found in patients with rheumatoid arthritis as compared to those with osteoarthritis. The plasma concentrations of other hormones under study were not significantly different in these groups of patients. Higher levels of 17-beta estradiol, progesterone and aldosterone were noted in inflammatory knee exudate of patients with rheumatoid arthritis. The levels of other hormones in exudates of patients with rheumatoid arthritis and those with osteoarthritis were not significantly different. The ratio of 17-beta estradiol / cortisol, 17-beta estradiol / testosterone and 17-beta estradiol / dehydroepiandrosterone showed increased proportions of estrogens over androgens or glucocorticoids in exudate from patients with rheumatoid arthritis.

**Conclusions.** These results demonstrated that steroid and peptide hormones are transferred to synovial fluid of knee. The presence of insulin, C-peptide and aldosterone was described for the first time in synovial fluid. In patients with rheumatoid arthritis a predominance of the levels of proinflammatory estrogens over androgens was found in knee exudate. Also the levels of aldosterone and progesterone were elevated in inflammation knee exudate. This suggests that these hormones present in synovial fluid may affect the local rheumatoid inflammatory processes.

**Key words:** steroid and peptidic hormones, synovial fluid, rheumatoid arthritis, osteoarthritis. *Ma.*

*Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 292–296.*

**R**eumatoidná artritída (RA) predstavuje multifaktoriálne autoimunitné ochorenie vznikajúce v dôsledku zvýšenej imunitnej a zápalovej odpovede organizmu na antigén, ktorý u normálnych ľudí nevyvoláva žiadne komplikácie (1). Okrem genetických faktorov (2) aj dysfunkcia endokrinného systému je pravdepodobne jedným z rizikových faktorov zapojených do procesu patogenézy RA, nakoľko sa ukázalo, že viaceré hormóny, resp. ich metabolity modulujú imunitnú odpoveď tkanív (2–4). Úloha endokrinného systému pri nástupe reumatoidnej artritídy a pri ovplyvňovaní jej priebehu sa aj dokumentuje klinickými skúsenosťami, ktoré popisujú zmeny priebehu RA u pacientov pri zmenách hladín vybraných hormónov (4–6). Pri sledovaní úlohy neuroendokrinných regulácií vo vývoji RA najviac pozornosti bolo venované úlohe hypotalamo-hypofýzo-nadobličkovej osi, nakoľko glukokortikoidy vykazujú významný imunosupresívny účinok a to inhibíciou produkcie prozápalových cytokínov a zvyšovaním sekrécie protizápalovo pôsobiacich cytokínov (7). Opakovane sa ukázalo, že aj gonadálne steroidy majú dôležitú úlohu vo vývoji RA, hoci mechanizmus ich pôsobenia pri RA nie je celkom objasnený (8, 9). Viacere práce poukázali na koreláciu medzi aktiváciou RA a znížením hladiny adrenálnych a gonadálnych androgénov pri RA (8–11).

Pokrok v poznaní vzajomných vzťahov endokrinného a imunitného systému v poslednej dekáde ukázal, že okrem adrenálnych a gonadálnych steroidov aj iné hormóny, modulujúce aktivitu imunitného systému, môžu ovplyvňovať priebeh RA (12–15). Zistilo sa, že prolaktín a rastový hormón majú imunostimulačný účinok a vykazujú antagonistický vplyv na pôsobenie glukokortikoidov (12, 15). U pacientov s RA sme zistili až v 36 % zvýšenie prolaktínu v plazme (16) a títo pacienti vykazovali zníženú odpoveď na glukokortikoidnú terapiu.

Okrem centrálnych neuroendokrinných regulačných mechanizmov vplyvujúcich na funkciu imunitného systému, tiež lokálne účinky hormónov na bunky imunitného systému v mieste zápalu môžu byť zapojené do vývoja reumatického zápalu (9, 11, 15, 17). Sledovanie lokálnych zmien v hladinách hormónov a v pôsobení hormónov na imunitné a spojivé tkanivá má preto význam pre poznanie patogenézy reumatoidného zápalu (18). V práci sme sledovali obsah vybraných hormónov v plazme a v exudáte kolenného kĺbu (EXD) u pacientov s RA. Ako kontrolné vzorky sme použili exudát nezápalového charakteru od pacientov s osteoartrózou (OS).

## SÚBOR PACIENTOV A POUŽITÉ METÓDY

V skupine pacientov s potvrdenou diagnózou reumatoidnej artritídy bolo 39 osôb (RA skupina, 22 žien, 17 mužov, priemerný vek  $51 \pm 3$  rokov, trvanie choroby  $4,5 \pm 1,1$  roka). V kontrolnej skupine s osteoartrózou (OS skupina) bolo 6 žien a 6 mužov, priemerný vek  $60 \pm 3$  roky). Všetci pacienti boli prijatí do Národného ústavu reumatických chorôb (NÚRCH, Piešťany), boli informovaní o cieľoch sledovania a dali písomný súhlas s účasťou v sledovaní. Etická komisia NÚRCH udelila súhlas s projektom klinických sledovaní. U všetkých pacientov prebehli rutinné klinické a laboratórne vyšetrenia (19). U pacientov, ktorým boli podávané nesteroidné antiflogistiká, bola liečba prerušená tri dni pred odberom krvi a synoviálnej tekutiny. Pacienti na hormonálnej terapii (estrogény, androgény), s diabetes mellitus alebo s endokrinnými poruchami boli vylúčení zo sledovania.

Pacientom bola odobratá krv ráno na lačno, separovaná plazma a použitá na stanovenie hormónov. Exudát sa získal punkciou kolen-

ného kĺbu. Po centrifugovaní exudátu sa supernatant použil na stanovenie hladiny hormónov. V exudáte bol stanovený počet buniek, aktivity laktát dehydrogenázy, obsah proteínov a glukózy. Zápalové (od pacientov s RA) a nezápalové (od pacientov s OS) exudáty boli klasifikované podľa Rovenského a Lukáča (19).

V plazme a v supernatante exudátov bol stanovený obsah hormónov: kortizol (CS), aldosterón (ALD), testosterón (TE), 17-beta estradiol (ES), dehydroepiandrosterón (DHEA), progesterón (PRG), prolaktín (PRL), inzulín (INS) a C-peptid. Koncentrácie hormónov boli určované radioimunologickými metódami, použitím komerčných súprav firmy Immunotech (Marseille, Francúzsko). Výsledné hodnoty boli testované na normálnu distribúciu použitím Kolmogorovej-Smirnovovej metódy. Hladiny hormónov, pri ktorých sa ukázala nenormálna distribúcia boli logaritmicke transformované pre štatistickú analýzu. Wilcoxonov test a t-test sa použili na zisťovanie rozdielov medzi dvoma skupinami. Jednoduchá regresná analýza sa použila na zistenie korelácie hladín hormónov v plazme a exudátoch, na koreláciu hormónov a počty buniek v exudátoch.

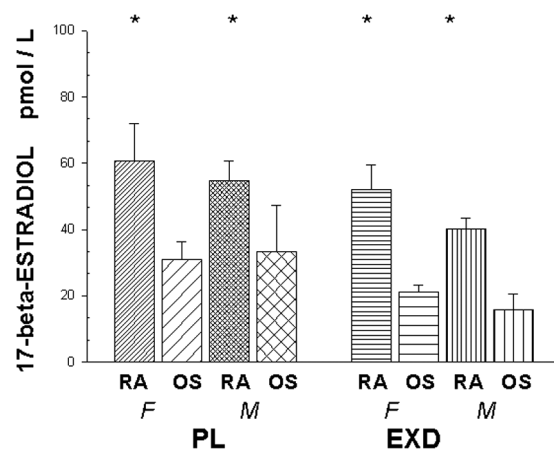
## VÝSLEDKY

### Hladiny hormónov v plazme u RA a OS pacientov

Zvýšené hladiny 17-beta estradiolu v plazme sa zistili u pacientov s RA v porovnaní s OS (graf 1). Hladiny testosterónu, progesterónu, aldosterónu, DHEA, prolaktínu a kortizolu v plazme u RA a OS pacientov sa signifikantne nelíšili (tab. 1, graf 2). Ďalej sa pozorovali zvýšené hladiny inzulínu u pacientov s RA v porovnaní so skupinou OS (tab. 1), plazmatické hladiny C-peptidu boli u RA pacientov síce vyššie, ale pre značný rozptyl hodnôt rozdiely oproti OS pacientom neboli signifikantné.

### Hladiny hormónov v exudátoch kolenného kĺbu

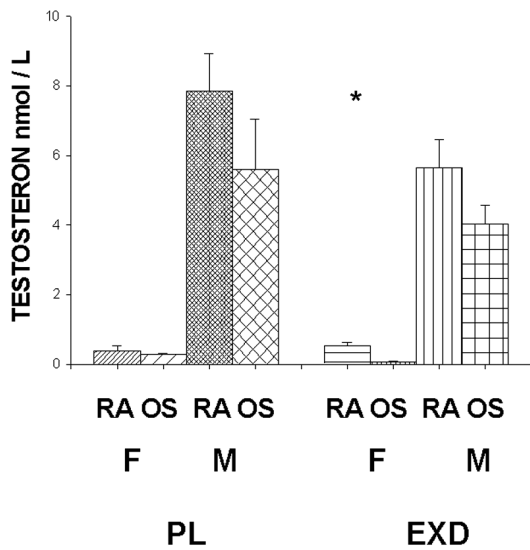
Zistilo sa, že všetky sledované hormóny sa nachádzajú aj v synoviálnej tekutine kolenného kĺbu, pričom koncentrácie 17-beta estradiolu a testosterónu boli v exudátoch nižšie ako v plazme (graf 3). Hladiny CS, DHEA, PRG, PRL v exudátoch neboli signifikantne rozdielne od plazmy. Ďalšia skupina hormónov – aldosterón, inzulín a C-peptid ukázala vyššie koncentrácie v exudátoch ako v plazme (graf 3). Vysoko signifi-



**Graf 1.** Hladiny 17-beta estradiolu v plazme (PL) a v exudáte (EXD) kolenného kĺbu u žien (F) a u mužov (M) pri reumatoidnej artritíde (RA) a osteoartróze (OS)

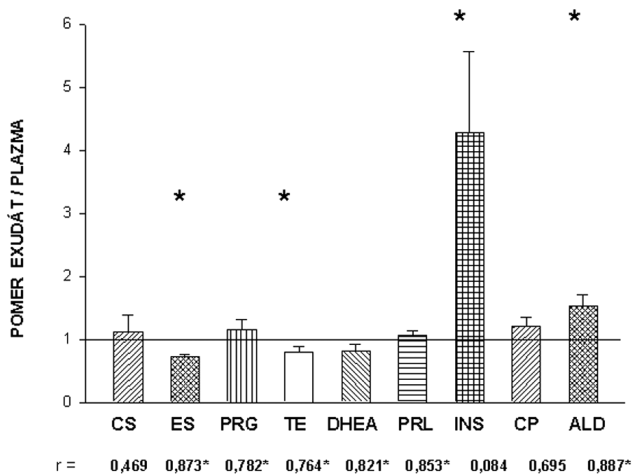
\* rozdiel RA:OS  $p < 0,05$





**Graf 2.** Hladiny testosterónu v plazme (PL) a v exudáte (EXD) kolenného kĺbu u žien (F) a u mužov (M) pri reumatoidnej artritíde (RA) a osteoartróze (OS)

\* rozdiel RA:OS  $p < 0,05$



**Graf 3.** Pomer hladín hormónov v plazme a exudáte kolenného kĺbu u pacientov s RA a OS

R – korelačný koeficient hladín hormónov v plazme a exudáte korelácia významná, \*rozdiel od 1 významný  $p < 0,05$

kantná pozitívna korelácia medzi hladinami hormónov v plazme a v exudáte sa zistila u pacientov s RA pre 17-beta estradiol, progesterón, testosterón, DHEA, aldosterón a prolaktín (graf 3,  $r$ =hodnoty korelačného koeficienta).

Pri porovnaní pacientov s RA a kontrolnou skupinou osôb s OS sa ukázalo, že hladiny 17-beta estradiolu (graf 1), progesterónu a aldosterónu (tab. 1) v zápalovom exudáte sú pri RA zvýšené. Mierny vzostup testosterónu v exudáte sa našiel u pacientov s RA (graf 2), ale hladiny kortizolu, DHEA, prolaktínu, inzulínu a C-peptidu neboli významne rozdielne pri porovnaní pacientov s RA a OS.

Zistila sa priama korelácia medzi množstvom buniek (ktoré charakterizujú ťažkosť zápalového procesu) v exudáte a obsahom 17-beta estradiolu ( $p < 0,02$ ) a aldosterónu ( $p < 0,03$ ).

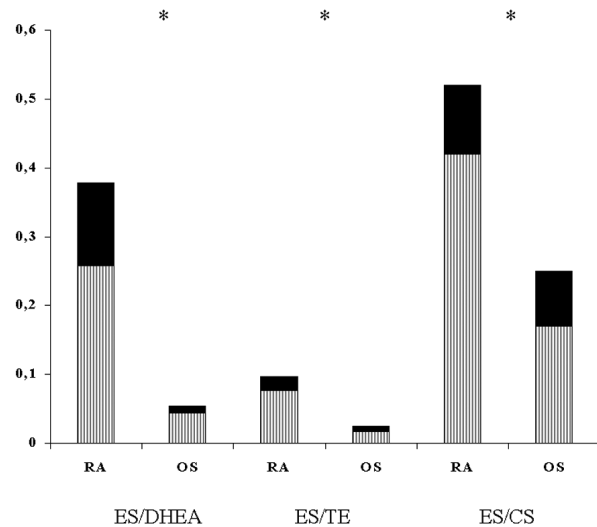
Stanovenie pomeru hladín 17-beta estradiolu a kortizolu,

**Tab. 1.** Hladiny hormónov v plazme a exudáte kolenného kĺbu pri RA a OS

hormón	Plazma		exudát	
	RA	OS	RA	OS
PRG	0,81±0,01	0,93±0,01	2,28±0,73*	0,86±0,38
DHEA	3,05±0,69	3,57±0,69	5,10±1,21	3,67±1,28
CS	168±34	169±54	154±15	125±12
ALD	160±30	108±19	213±24*	132±16
PRL	6,14±0,90	6,18±1,50	6,93±0,73	7,16±1,11
INS	111±17§	59±12	163±33	203±66
C-PEPT	1506±256	919±165	1074±292	1024±283

PRG – progesterón (nmol/l), DHEA – dehydroepiandrosterón (nmol/l), CS – kortizol (nmol/l), ALD – aldosterón, (pmol/l), PRL – prolaktín (ng/ml), INS – inzulín (pmol/l), C-PEPT – C-peptid (pmol/l), RA – reumatoidná artritída, OS – osteoartróza

\* RA:OS  $p < 0,05$  v exudáte, § RA:OS  $p < 0,05$  v plazme



**Graf 4.** Pomer hladín 17- beta estradiolu k hladinám dehydroepiandrosterónu (ES/DHEA), testosterónu (ES/TE) a kortizolu (ES/CS) v exudátoch kolenného kĺbu u pacientov s reumatoidnou artritídou (RA) a osteoartrózou (OS) RA:OS  $p < 0,05$

17-beta estradiolu a DHEA, 17-beta estradiolu a testosterónu (u mužov) v exudátoch ukázalo výrazne zvýšené hodnoty tohto pomeru u pacientov s RA v porovnaní s OS, čo poukazuje na prevahu prozápalovo pôsobiach estrogénov v exudátoch pacientov s RA (graf 4).

## DISKUSIA

Viacere štúdie ukázali, že najmä hladiny steroidných hormónov v synoviálnej tekutine klbov môžu mať význam pri objasnení patogenézy vývoja reumatoidnej artritídy, a to vplyvním produkcie cytokínov (17, 18). V našich sledovaniach sme zistili zvýšené hladiny 17-beta estradiolu v plazme a exudátoch u pacientov s RA čo je v súhlase s nálezmi Cutola a Wildera

(11), ktorí pripisujú estrogénom význam v aktivácii zápalu pri RA.

Popísalo sa zníženie hladín testosterónu, DHEA, resp. DHEA-S (21, 22) v plazme u pacientov s RA. V našich sledovaniach sme však nezistili znížené hladiny testosterónu a DHEA ani v plazme ani v exudátoch pri RA. Napriek tomu sa ukázalo, že hodnoty pomeru hladín ES/TE a ES/DHEA v exudáte sú výrazne vyššie u pacientov s RA, čo poukazuje na prevahu prozápalovo pôsobiace estrogénov v mieste zápalu. Prozápalovo pôsobiace metabolity steroidov môžu pochádzať aj z lokálnej premeny steroidných prekursorov (napr. DHEA) v synoviocytoch (4, 8, 23).

U pacientov v začiatočných fázach reumatoidnej artritídy sa popisovala dysfunkcia hypotalamo-hypofýzo-nadobličkovej osi (24), ale pritom sa nenachádzali zmeny plazmatických hladín kortizolu (25). Ukázala sa relatívna insuficiencia kôry nadobličiek u pacientov s RA posúdená na základe zníženej odpovede glukokortikoidov na ACTH (22, 25) ako aj zníženej tvorby nadobličkových androgénov (26). V našich sledovaniach sme nezistili signifikantné rozdiely v plazmatických hladinách kortizolu u pacientov s RA a OS. Rovnako sme nepozorovali zníženie obsahu kortizolu v exudátoch pri RA, ale hodnoty pomeru hladín 17-beta estradiolu ku hladinám kortizolu v exudáte ukázali výraznú prevahu prozápalovo pôsobiace estrogénov u RA pacientov.

Pôvodným nálezom sú zmeny hladín aldosterónu v synoviálnej tekutine u RA. Je relatívne málo poznatkov o pôsobení aldosterónu na zápalové procesy. Ukázalo sa, že aldosterón stimuluje zápalovú bunkovú infiltráciu v obličkách a spironolaktón – blokátor receptorov aldosterónu – znižuje prozápalové pôsobenie aldosterónu (27, 28). Spironolaktón potláča produkciu viacerých prozápalových cytokínov v ľudských leukocytoch (29) a vykazuje terapeutický účinok u pacientov s chronickou RA. Zvýšené hladiny aldosterónu v plazme sa pozorovali u pacientov s reumatoidnou artritídou (30) a v našich sledovaniach sme zistili hlavne vzostup aldosterónu v exudáte pri RA, čo je v súhlase s jeho prozápalovým pôsobením, a umožňuje uvažovať o úlohe lokálnych hladín aldosterónu pri zápale.

V sledovaniach sme ďalej zistili, že okrem steroidných hormónov sa do exudátov dostávajú aj viaceré peptidické hormóny (31), ktoré sa zaraďujú medzi imunodulačné hormóny. Z nich najmä prolaktín má významnú lokálnu imuno-regulačnú úlohu a moduluje expresiu génov, produkciu rastových faktorov a cytokínových receptorov v ľudských lymfocytoch (15) a môže mať význam v patogenéze RA. V súbore pacientov s RA sme síce nezistili významné rozdiely v hladinách prolaktínu v plazme a exudáte v porovnaní s OS, ale Berczi et al. (32) ukázali, že napriek normálnym hladinám prolaktínu v plazme je u pacientov s RA signifikantne znížená biologická aktivita prolaktínu, čo podporuje rozvoj zápalového procesu.

V plazme pacientov s RA sme zistili zvýšené hladiny inzulínu v porovnaní s OS a pôvodným prínosom našich pozorovaní bol nález inzulínu a C-peptidu aj v exudátoch kolien, pričom sa hladiny inzulínu v exudátoch u RA a OS pacientov signifikantne nelíšili. Úloha inzulínu v zápalových procesoch nie je objasnená. Klinické aj experimentálne štúdie ukázali vzťah medzi zápalovými procesmi a zníženou senzitivitou na inzulín. Zvýšená produkcia cytokínov a vysoké hladiny ukazovateľov zápalu (napr. CRP) sa pozorovali u chorôb spojených s rezi-

stenciou na inzulín (34–36). U pacientov s RA sa pozorovala menšia stimulácia vychytávania 2-deoxyglukózy v synoviálnych bunkách v porovnaní s bunkami zdravých jedincov (37). Toto nižšie stimulačné pôsobenie inzulínu u RA nie je spôsobené poklesom väzby inzulínu na bunky v synoviálnom výpotku, pretože sme zistili, že väzba inzulínu na plazmatické membrány buniek v exudáte kolenného kĺbu u reumatikov je významne zvýšená (38). Je preto pravdepodobné, že zníženie účinku inzulínu u RA pacientov ako aj pri ďalších chronických zápaloch, je spôsobené zmenou v priebehu postreceptorových procesov (39), takže objasnenie účinku inzulínu v synoviocytoch reumatických pacientov si bude vyžadovať ďalšie skúmanie najmä postreceptorového mechanizmu pôsobenia inzulínu. Okrem inzulínu sa popísala prítomnosť aj ďalších peptidických hormónov v synoviálnej tekutine (ako rastový hormón, prolaktín, TSH), ale bez výraznejších zmien u RA (31) a ich úloha v rozvoji RA nie je objasnená.

#### Skratky

ACTH	– adrenokortikotropný hormón
ALD	– aldosterón
C-PEPT	– C-peptid
CRP	– C-reaktívny proteín
CS	– kortizol
DHEA	– dehydroepiandrosterón
DHEA-S	– dehydroepiandrosterón sulfát
ES	– 17-beta-estradiol
EXD	– exudát
F	– ženy
INS	– inzulín
M	– muži
NÚRCH	– Národný ústav reumatických chorôb
OS	– osteoartróza
PL	– plazma
PRG	– progesterón
PRL	– prolaktín
RA	– reumatoidná artritída
TE	– testosterón
TSH	– tyreotropný hormón

#### LITERATÚRA

- Ford, D.K.:** Understanding of rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 1997, 24, s. 146-152.
- Růžičková, Š., Vencovský, J.:** Genetika autoimunitných chorôb. *Revmatoidná artritída. Čes. Revmatol.*, 2001, 9, s. 14-20.
- Hampl, R., Lapčík, O., Hill, M. et al.:** 7-Hydroxydehydroepiandrosterone – a natural glucocorticoid and a candidate for steroid replacement therapy. *Physiol. Res.*, 2000, 49 (Suppl. 1), s. 107-112.
- Schmidt, M., Naumann, H., Widler, C. et al.:** Inflammation and sex hormone metabolism. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2006, 1069, s. 236-246.
- Imrich, R.:** The role of neuroendocrine system in pathogenesis of rheumatic diseases (minireview) *Endocr. Regul.*, 2002, 36, s. 95-106.
- Kvien, T. K., Uhlig, T., Odegard, S., Heiberg, M. S.:** Epidemiological aspects of rheumatoid arthritis: the sex ratio. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2006, 1069, s. 212-222
- Barnes, P. J.:** Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clin. Sci.*, 1998, 94, s. 557-572.

8. **Castagnetta, L. A., Carruba, G., Granata, O. M. et al.:** Increased estrogen formation and estrogen to androgen ratio in the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 2003, 30, s. 2597-2605.
9. **Campelino, S., Montagna, P., Villagio, B. et al.:** Role of estrogen in inflammatory response: expression of estrogen receptors in peritoneal fluid macrophages from endometriosis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2006, 1069, s. 263-267.
10. **Khalkhali-Elli, Z., Moore, T. L., Hendrix, M. J.:** Reduced levels of testosterone and dehydroepiandrosterone sulphate in the serum and synovial fluid of juvenile rheumatoid arthritis patients correlates with disease severity. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 1998, 16, s. 753-756.
11. **Cutolo, M., Wilder, L.:** Different role of androgens and estrogens in susceptibility to autoimmune rheumatic diseases. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 2000, 26, s. 825-840.
12. **Chikanza, I. C.:** The neuroendocrine immunology of rheumatoid arthritis. *Baillies Clin. Rheumatol.*, 1996, 10, s. 273-293.
13. **Baerwald, C. G., Burmester, G. R., Krause, A.:** Interactions of autonomic nervous, neuroendocrine, and immune systems in rheumatoid arthritis. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 2000, 26, s. 841-858.
14. **Moskorzová, L., Lacinová, Z., Musilová, L. et al.:** Prolaktín u nemocných se systémovým lupus erythematoses. Přehled problematiky. *Čes. Revmatol.*, 2001, 9, s. 145-149.
15. **Gutierrez, M. A., Anaya, J. M., Cabrera, G. E. et al.:** Prolactin, a link between the neuroendocrine and immune systems. Role in the pathogenesis of rheumatic diseases. *Rev. Rheum.*, 1994, 61, s. 278-285.
16. **Rovenský, J., Bakosová, J., Payer, J. et al.:** Increased demand for steroid therapy in hyperprolactinemic patients with rheumatoid arthritis. *Int. J. Tissue React.*, 2001, 23, s. 145-149.
17. **Cutolo, M., Accardo, S., Villaggio, B. et al.:** Evidence for androgen receptors in the synovial tissue of rheumatoid arthritis patients and healthy controls. *Arthritis Rheum.*, 1992, 35, s. 1007-1015.
18. **Cutolo, M., Serio, B., Villagio, B. et al.:** Androgens and estrogens modulate immune and inflammatory responses in rheumatoid arthritis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2002, 966, s. 131-142.
19. **Rovenský, J., Lukáč, J.:** Reumatické choroby. In: Trnovec, T., Dzurik, R.: Štandardy diagnostických a terapeutických postupov. Martin, Osveta, 1996, s. 470.
20. **Chrousos, G. P.:** Endocrine-immune-reinteractions. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 2001, 19, s. 600-610.
21. **Imrich, R., Rovenský, J., Malis, F. et al.:** Low levels of dehydroepiandrosterone sulphate in plasma and reduced sympathoadrenal response to hypoglycaemia in premenopausal women with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2005, 64, s. 202-206.
22. **Cutolo, M., Foppiani, L., Prete, C. et al.:** Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis function in premenopausal women with rheumatoid arthritis not treated with glucocorticoids. *J. Rheumatol.*, 1999, 26, s. 282-288.
23. **Stárka, L., Hampl, R., Hanuš, M. et al.:** Plasma levels of 7-hydroxymetabolites of dehydroepiandrosterone in healthy Central European aging men. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2005, 43, s. 1218-1222.
24. **Masi, A. T.:** Neuroendocrine immune mechanisms in rheumatic diseases. An overview and future implication. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 2000, 26, s. 1003-1018.
25. **Gudbjornsson, B., Skogseid, B., Oberg, K. et al.:** Intact adrenocorticotrophic hormone secretion but impaired cortisol response in patients with active rheumatoid arthritis. Effect of glucocorticoids. *J. Rheumatol.*, 1996, 23, s. 596-602.
26. **Masi, A. T., Chatterton, R. T., Aldag, J. C.:** Perturbation of hypothalamic-pituitary-gonadal axis and adrenal androgen functions in rheumatoid arthritis: an odyssey of hormonal relationships to the disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1999, 876, s. 53-62.
27. **Tostes, R. C., Touyz, R. M., He, G. et al.:** Contribution of endothelin-1 to renal activator protein-1 activation and macrophage infiltration in aldosterone induced hypertension. *Clin. Sci.*, 2002, 103 (Suppl. 48), s. 258-308.
28. **Gerling, I. C., Sun, Y., Ahokas, R. A. et al.:** Aldosteronism: an immunostimulatory state precedes proinflammatory/fibrogenic cardiac phenotype. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2003, 285, s. H813-H821.
29. **Bendtsen, K., Hansen, P. R., Rieneck, K.:** Spironolactone inhibits production of proinflammatory cytokines, including tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma, and has potential in the treatment of arthritis. *Clin. Exp. Immunol.*, 2003, 134, s. 151-158.
30. **Ornat, S. I.:** The effect of aurotherapy on the content of corticotropin, cortisol, aldosterone and insulin in the blood serum of rheumatoid arthritis patients. *Vrach Delo*, 1991, 69, s. 61-65.
31. **Rovenský, J., Imrich, R., Radíková, Z. et al.:** Peptide hormone and histamine in plasma and synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Endocr. Regul.*, 2005, 39, s. 1-6.
32. **Berczi, I., Cosby, H., Hunter, T. et al.:** Decreased bioactivity of circulating prolactin in patients with rheumatoid arthritis. *Br. J. Rheumatol.*, 1987, 26, s. 433-436.
33. **Walmsmith, J., Roubenoff, R.:** Cachexia in rheumatoid arthritis. *Int. J. Cardiol.*, 2002, 85, s. 89-99.
34. **Penešová, A., Rovenský, J., Zlnay, M. et al.:** Attenuated insulin response and normal insulin sensitivity in lean patients with ankylosing spondylitis. *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.*, 2005, 25, s. 107-114.
35. **Abbatecola, A. M., Ferrucci, L., Grella, R. et al.:** Diverse effect of inflammatory markers on insulin resistance and insulin-resistance syndrome in the elderly. *J. Am. Geriatr. Soc.*, 2004, 52, s. 399-404.
36. **Lee, Y. H., Pratley, R. E.:** The evolving role of inflammation in obesity and the metabolic syndrome. *Curr. Diab. Rep.*, 2005, 5, s. 70-75.
37. **Estrada, D. E., Elliot, E., Zimmann, B. et al.:** Regulation of glucose transport expression of GLUT3 transporters in human circulating mononuclear cells. Studies in cells from insulin dependent diabetic and nondiabetic individuals. *Metabolism*, 1994, 43, s. 591-598.
38. **Rovenský, J., Kvetnanský, R., Radíková, Z. et al.:** Hormone concentrations in synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Exper. Rheumatol.*, 2005, 23, s. 292-296.
39. **Aussel, C., Desmoulins, D., Agneray, J., Ekindjian, O. G.:** Effect of insulin on aminoisobutyric acid uptake by human non-rheumatoid and rheumatoid synovial cells. *FEBS Letters*, 214, s. 327-330.

*Autori ďakujú E. Vizstovej za precíznu analýzu vzoriek, dr. S. Wimmerovej za štatistickú analýzu výsledkov.*

*Práca bola podporovaná grantami VTP 21-06-01/98, ďalej APVT 21 008602 a čiastočne grantom od MZ SR.*

## Kusé vzpomínky na Štěpánskou ulici

Schreiber V.

Ve Štěpánské ulici existovala již od roku 1942 „Sociálně-zdravotnická poradna pro choroby žláz s vnitřní sekrecí“, založená jedním ze zakladatelů české a československé endokrinologie MUDr. Karlem Šilinkem. Když jsem v roce 1946 nebo 1947 navštívil doktora Šilinka ve Štěpánské ulici, měl jsem prosbu: pracovat v endokrinologii a přivydělat si nějaké peníze. Dr. Šilink mě vzal jako laboranta na částečný úvazek (při mém studiu medicíny, práci demonstrátora ve Fyziologickém ústavu LF UK v Praze a na III. interní klinice, kde jsem byl laborantem od září 1945). Dr. Šilink mi přidělil m.j. jako metodu tzv. kjedahlizaci, metodu stanovení dusíku v organických vzorcích, vypracovanou v roce 1883 S. D. Ch. K. Kjeldahlem (1849–1900), dánským chemikem. Metoda spočívala ve vaření vzorků v koncentrované kyselině sírové ve zvláštních „kjedahlizačních baňkách“ – ovšem v digestoři, protože to silně páchlo kyselinou sírovou. To vše se dělo v činžáku naproti kostelu sv. Štěpána. Protože jsem současně pracoval na fyziologii, zmohl jsem se na řadu publikací, které v záhlaví měly „Sociálně-zdravotnická poradna pro žlázy s vnitřní sekrecí“. Celkem jich bylo 8, prvá z roku 1948, poslední z roku 1950). Na posledních už

bylo „Ústřední endokrinologický ústav“, na který se Šilinkovi nějak podařilo poradnu přejmenovat. To vše bylo možné proto, že jsem před tím (1943–1945) byl dva roky totálně nasazen v ČKD, předstíral výrobu součástek k tankům (nebylo skoro do čeho píchnout) a naučil se předem celé I. rigorózum. Kromě toho pachu kyseliny sírové se na nic moc nepamatují, jen na pohodovost prostředí, Šilinkovu kultivovanost, odbornou úroveň a vlídnost. Také si vzpomínám na šarmantní a noblesní dámu, bývalou sekretářku Hany Benešové, a na dobrého ducha ústavu (i po mnohá další léta) sekretářku Jarmilu Černou. Ve Štěpánské pracoval jako chemik dr. Otomar Pihar, docházel tam profesor Košťtíř a docent Bleha. Nakonec úplná maličkost – měli tam „horské slunce“, a tak jsme se tehdy opalovali, i když dnes už se ví, že je to trochu hazard. Ostatně nedávno mi na ordinaci dermatologů prof. Mazánek vyoperoval lentigo maligna na tváři. Ale Finzenovi byla v roce 1902 udělena Nobelova cena za objev léčby lupus vulgaris (kožní forma tuberkulózy) ultrafialovým zářením a vitamin D hraje v medicíně (osteologii, imunologii, infekcionistice) stále významnou a jak se zdá stále významnější roli.

prof. MUDr. Vratislav Schreiber, DrSc.  
100 00 Praha 10, Žitomířská 39

## Radioizotopové oddělení v Motole – jak šel čas

Vlček P.

*Klinika nukleární medicíny a endokrinologie 2. LF UK a FNM, Praha*

### SOUHRN

Radioizotopové oddělení v Motole vzniklo 1. července 1959 jako součást doc. Karlem Šilinkem vybudovaného Výzkumného ústavu endokrinologického. Oddělení zpočátku mělo 20 lůžek a hlavní náplní byla léčba tyreotoxikóz radiojodem. Od roku 1965 je pozornost věnována léčbě karcinomu štítné žlázy a tato tradice zůstává zachována do současné doby. V práci je podán přehled o hlavních směrech vývoje pracoviště od jeho počátku až po dnešní dny.

**Klíčová slova:** radioizotopy, karcinom štítné žlázy, Endokrinologický ústav v Praze.

### SUMMARY

*Vlček P.: Radioisotope Department in Motol – The Flow of Time*

The radioisotope department in Motol was established on the 1<sup>st</sup> of June 1957 as the part of The Research Institute of Endocrinology founded by Assoc. Prof. Karel Šilink. In the beginning, the

doc. MUDr. Petr Vlček, CSc.  
150 06 Praha 5, V Úvalu 84  
fax: +420 224 434 620, e-mail: petr.vlcek@fnmotol.cz

department included 20 beds and its main activity consisted of radioiodine treatment of hyperthyroidism. Since 1965 the attention has been paid to the treatment of thyroid cancer, and this tradition continues till this time. The article reviews the main directions of development of this department since the very beginning to present.

**Key words:** thyroid oncology, radioisotopes, Institute of Endocrinology in Prague.

VI.

*Čas. Lék. čes., 2007, 146, pp. 297–300.*

**P**rvní experimentální studie s radioaktivními látkami se v Motole datují na počátek 50. let minulého století. V roce 1951 byla doc. MUDr. Karlem Šilinkem, DrSc. vybudována první radioimunoanalytická laboratoř při Sociálně zdravotnické poradně, kterou vedl RNDr. Svatopluk Röhling. První terapie radiojodem nemocných s tyreotoxi-kózou byly provedeny v letech 1956–1959 ve Výzkumném ústavu endokrinologickém (VÚE). V budově na Národní třídě byl podán radionuklid a vlastní hospitalizace pak probíhala v interní nemocnici ve Staré škole v Dušní ulici. Organizačně i po stránce zajištění bezpečnosti pacientů a personálu z hlediska radiační ochrany nebylo toto uspořádání zrovna nejvhodnější, proto hledal doc. Šilink prostory nové. Ty získal dohodou s tehdejším ředitelem Státní nemocnice v Motole MUDr. Oskarem Lövyem. Dne 1. července 1959 tak vzniká Radioizotopové oddělení jako společné pracoviště Výzkumného ústavu endokrinologického (ten vznikl 1. ledna 1957) a Městské nemocnice v Motole a stává se lůžkovou bází Šilinkem založeného ústavu. Podle této dohody byli všichni vysokoškoláci zaměstnanci endokrinologického ústavu, zatímco střední zdravotnický personál včetně sanitárek byli zaměstnanci nemocnice, která rovněž zajišťovala provoz na lůžkovém oddělení o kapacitě 20 lůžek. Počet hospitalizovaných se pohyboval kolem 150–180 pacientů ročně. Prvním přednostou Radioizotopového oddělení byl přímo doc. Karel Šilink, který docházel na pracoviště několikrát týdně vést vizity. O provoz oddělení po stránce organizační se staral jeho zástupce – prim. MUDr. Jan Kubal, který byl zaměstnancem motolské nemocnice a který zároveň zodpovídal za chod oddělení po stránce léčebně–preventivní péče. Docent Šilink začal využívat nových prostor nejen k diagnostickým účelům, ale i pro terapii radiojodem.

Personální obsazení oddělení bylo od počátku bohaté na osobnosti. S otevřením oddělení přichází MUDr. Jaroslav Blahoš, MUDr. Radmil Höschl a o měsíc později MUDr. Jan Němec. Po dvou letech odchází dr. J. Blahoš na několikaletý zahraniční pobyt, dr. R. Höschl se stává expertem WHO a nakonec končí v Austrálii jako profesor nukleární medicíny. V roce 1963 nastupuje MUDr. Marta Neradilová, CSc., v roce 1965 MUDr. Stanislav Váňa, CSc. a MUDr. Václav Zamrazil, CSc. První dva jmenovaní pracovali na oddělení až do svého skonu, MUDr. Zamrazil se stal v roce 1983 vedoucím klinického oddělení VÚE a přesídlil na Národní třídu. MUDr. Jan Němec, CSc. převzal vedení oddělení po zemřelém prim. Kubalovi v roce 1965.

Klíčovým momentem pro další rozvoj pracoviště byl rok 1962, kdy byl zakoupen pohybový scintigraf firmy Siemens, čímž bylo možno rozšířit služby o konziliární vyšetření pro Městskou nemocnici v Motole. Na oddělení v této době pracovalo 30 zaměstnanců a na ambulanci bylo vyšetřeno kolem 400 pacientů ročně. Ve spolupráci s gyne-

kologickým oddělením bylo v letech 1962–1968 léčeno ještě před érou cytostatik asi 200 pacientek intrakavitální aplikací koloidu radiozlata <sup>198</sup>Au. V této době byla hlavní náplní oddělení výhradně terapie tyreotoxi-kóz. Od roku 1965 se oblast zájmu postupně přesunula k léčbě diferencovaného karcinomu štítné žlázy. Počet hospitalizovaných i počet nově diagnostikovaných nemocných s karcinomem štítné žlázy postupně narůstal, ročně bylo přijímáno kolem 150 nemocných. Postupně prim. Němec se svými spolupracovníky zavedl krokový diagnostický postup, kterým je optimalizována laboratorní diagnostika tyreopatií, vyšetřují se periferní parametry hodnotící funkci štítné žlázy na základě vyšetření reflexu Achillovy šlachy. Začalo systematické studium přežití nemocných s karcinomem štítné žlázy. Hodnotí se hlavní faktory přežití: histologie, věk, výskyt vzdálených metastáz, význam tyreoglobulinu jako nádorového markeru pro monitorování průběhu léčby. Pracoviště úzce spolupracuje s Oddělením radioizotopového výzkumu a diagnostiky VÚE vedeném RNDr. PhMr. Jiřím Bednářem, DrSc.

Péče o nemocné karcinomem štítné žlázy se v Motole postupně koncentrovala a vzniklo tak vzorové centrum pro tyreoidální onkologii, a to v celorepublikové působnosti. Na pracovišti vzniká skupina fyziků, kteří zajišťují provoz po stránce radiační ochrany a věnují se dozimetrickým měřením: dr. Röhling, ing. Vohnout, ing. Zimák, doc. ing. Heřmanská. V radiojodové laboratoři se na přípravě radiofarmak postupem času vystřídalá několik laborantů: Ježek, Plavcová, Augustinová, Havelková, Brousilová. V hematologické laboratoři, která je součástí lůžkového oddělení, byly prováděny odběry a vyšetření u pacientů po léčbě radiojodem, u kterých nelze radioaktivní vzorky krve poslat do centrální laboratoře (laboranti: Zvěřina, Moravcová, Váňová, Sochorová).

V roce 1972 nemocnice zakoupila barevný scintigraf firmy Picker, který umožňoval zpřesnit interpretaci scintigrafických nálezů. V roce 1975 došlo k další úpravě lůžkového oddělení – počet lůžek se zvýšil na 25, což umožnilo provést až 300 hospitalizací ročně. V roce 1980 získalo oddělení svoji první planární scintilační kameru maďarské výroby a došlo opět k dalšímu navýšení počtu lůžek na 29, čímž vznikla nejrozsáhlejší lůžková základna pro léčbu nemocných s karcinomem štítné žlázy v tehdejší Československu. Počet hospitalizovaných postupně narůstal až k 700 hospitalizacím ročně (stav v roce 1995).

Za další zlom v rozvoji pracoviště lze považovat rok 1985, kdy byl od nemocnice získán další pavilon, ve kterém vznikla diagnostická část radioizotopového oddělení. Prvním vedoucím lékařem této části byl MUDr. Tomáš Blažek, CSc., který se později habilitoval na 2. LF UK pro obor biofyziky a byl jmenován přednostou Ústavu biofyziky 2. LF UK. Motolská nemocnice zřízením diagnostické části Radioizo-

topového oddělení získala možnost pro své pacienty provádět nukleární diagnostiku. Postupným zaváděním nových metod se stala nepostradatelnou součástí nemocničního komplexu. Zahájení provozu na diagnostické části oddělení si postupně vyžádalo nezbytnost zlepšení přístrojového vybavení pracoviště – oddělení získalo několik nových scintilačních kamer.

Postupně se vytvořil tým specialistů z různých oborů, který se podílí na diagnostice a léčbě nemocných s karcinomem štítné žlázy. V Endokrinologickém ústavu se díky MUDr. Vlastimilu Šmejkalovi, DrSc. rozvíjí předoperační cytodiagnostika pomocí tenkojehlové aspirační biopsie (FNAB). Na jeho práci navazují další endokrinologové: MUDr. Irena Pelikánová a MUDr. Zdeněk Novák, CSc., který zavádí provádění FNAB pod sonografickou kontrolou. Na histologickou interpretaci onkologických nálezů se zaměřuje MUDr. Vladimír Zeman, CSc., primář patologicko-anatomického oddělení v Motole. V těsné spolupráci s 1. chirurgickou klinikou nemocnice v Motole probíhá chirurgické ošetření nemocných s karcinomem štítné žlázy. Spolupráce s přednostou chirurgického oddělení prof. MUDr. Bohuslavem Niederlem, DrSc. vynikajícím operátorem štítné žlázy, umožnila zavedení tzv. „horkých“ operací nádorů štítné žlázy po aplikaci radiojodu. Prof. B. Niederle a jeho nástupci prof. MUDr. Vladimír Nahodil, DrSc. a prof. MUDr. Josef Dvořák, DrSc. dále rozvíjeli chirurgii štítné žlázy ve smyslu propracování radikality výkonu při zachování jeho bezpečnosti. Později, počátkem 90. let minulého století, se na ORL klinice pod vedením prof. MUDr. Jana Betky, DrSc. buduje pracovní tým zaměřený na provádění modifikovaných blokových disekcí uzlinových syndromů u nemocných s tyreoidálním karcinomem.

Vznikají nové specializované poradny. V roce 1970 začíná zajišťovat komplexní léčbu závažných forem endokrinní orbitopatie MUDr. Stanislav Váňa, CSc. Vzniká model pracovního týmu, kdy v jedné ordinaci současně vyšetřuje endokrinolog s oftalmologem (MUDr. Pavel Rezek, CSc. – nyní Oční klinika FN Bulovka). S možností stanovovat v séru imunoreaktivní kalcitonin, v roce 1978, vzniká pod vedením MUDr. Marty Neradilové, CSc. poradna pro medulární karcinom štítné žlázy, ve které se soustřeďují nemocní s touto diagnózou prakticky z celé republiky. Od roku 1992 se současně ve spolupráci s MUDr. Pavlem Štolbou, CSc., později s RNDr. Bělou Bendlovou, CSc. ve VÚE buduje první DNA banka těchto nemocných. V roce 1987 ve VÚE vzniká skupina, která se zaměřuje na sonografickou diagnostiku štítné žlázy (MUDr. Zdeněk Novák, MUDr. Jiří Fexa, MUDr. Petr Vlček). Lékaři z VÚE slouží v Motole a současně na klinickém oddělení na Národní třídě. Motolským pracovištěm postupně prochází celá plejáda lékařů (bez titulů): Strouhal, Dvořáček, Pikardová, Vavřejnová, Valenta, Heresová, Pohunková, Fexa, Holub, Novák, Šterzl, Poršová, Paulíková, Křenek, Nývltová, Vlček, Weiss, Volmuthová, Racek, Vošmiková, Škacha, Zemanová, Sýkorová, Cajthaml. Někteří zde pracují řadu let, někteří jen několik měsíců.

Na oddělení byla vždy věnována velká pozornost vědecko-výzkumné práci. V 60. letech minulého století je zkoumán efekt léčby radiojodem na krevní obraz a na rozvoj komplikací po jeho podání. Je hodnocen efekt po jedno-

rázovém podání  $^{806m}\text{Ci}$  radiojodu. Velká pozornost je věnována algoritmu monitorování nemocných s tyreoidálním karcinomem a přežití. Z motolského pracoviště vzešlo přes 600 publikací. V roce 1985 získal autorský kolektiv Němec, Zamrazil, Bednář a Nahodil Státní cenu, v roce 1996 byla prof. Němcovi předána Cena ministra zdravotnictví ČR.

Oddělení je zapojeno i do pregraduální a postgraduální výuky. Od 70. let na oddělení probíhá systematická výuka endokrinologie v rámci interního lékařství, dlouhá léta byl prof. Němec předsedou zkušební komise pro atestace z endokrinologie. Od roku 1999 je pracoviště jednou z výukových základů Subkatedry endokrinologie IVPZ, která sídlí v Endokrinologickém ústavu. V roce 1992 došlo k zapojení pracoviště do výuky nukleární medicíny v rámci magisterského studia zobrazovacích metod.

Dne 1. července 1992 vzniká z Radioizotového oddělení VÚE Klinika nukleární medicíny 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a FN v Motole, v jejím čele stojí doc. MUDr. Jan Němec, DrSc., který se rok předtím habilitoval a v roce 1994 byl jmenován profesorem nukleární medicíny, MUDr. Petr Vlček se stává jeho asistentem. V této době se rozvíjejí i nové diagnostické metody: V roce 1992 se zavádí do monitorování málo pokročilých forem karcinomu štítné žlázy scintigrafie pomocí  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI. V roce 1994 je dosaženo významného pokroku v léčbě medulárního karcinomu štítné žlázy, a to podáním radiojodem značeného MIBG. Jde o první léčbu tohoto druhu v České republice.

Zásadní změny na klinice nastávají v březnu 1998 přestěhováním do nových prostor fakultní nemocnice, do moderního pavilonu FN v Motole. Klinika získává nové lůžkové kapacity (má již 34 lůžek) a moderní přístrojové vybavení (2 scintilační kamery). Je tak umožněn rozvoj zejména nukleární diagnostiky a nové vybavení umožnilo rozšířit spektrum scintigrafických vyšetření a zavést nové léčebné postupy i u netyreoidálních zhoubných nádorů. Pracoviště je posíleno o specialisty pro nukleární medicínu: MUDr. Hanu Křížovou, která zavádí lymfoscintigrafii, MUDr. Zdeňku Rotnáglovou, CSc., MUDr. Kateřinu Michalovou, která rozvíjí až dosud na pracovišti neprováděnou nukleární kardiologii, MUDr. Kateřinu Táborskou, MUDr. Nevenku Solar).

V roce 1999 vystřídal ve vedení kliniky prof. Němce doc. MUDr. Petr Vlček, CSc., který se rok předtím habilitoval pro obor nukleární medicíny. Pod jeho vedením se dále rozvíjejí základní diagnostické a léčebné programy, rozšiřuje se spolupráce s dalšími klinikami. V roce 2000 se podařilo zakoupit pro lůžkové oddělení novou scintilační kameru, která nahrazuje již nevyhovující zařízení z 80. let. Téhož roku přestává být klinika po formální stránce součástí Endokrinologického ústavu a zůstává začleněna pouze do struktur 2. LF UK a FNM. Zachovává si však nadále těsné pracovní a ideové propojení s Endokrinologickým ústavem. V roce 1999 je poprvé podán  $^{131}\text{I}$ -MIBG nemocnému s karcinoidem. V roce 2001 je na pracovišti pomocí toho radiofarmaka odléčen první nemocný s feochromocytomem. Téhož roku je při klinice zřízeno Centrum pro tyreoidální onkologii a tyreoidální orbitopatii 2. LF UK a FN Motol, kdy je vlastně jen formalizována letitá činnost pracoviště.

V roce 2002 dochází ministryní zdravotnictví ČR k přejmenování pracoviště na Klinikou nukleární medicíny a endokrinologie 2. LF UK a FNM. V poradně pro endokrinní orbitopatie, kterou vede po smrti dr. Váni (1998) MUDr. Michal Škácha, je jako alternativa kortikoidní terapie zavedena léčba analogy somatostatinu. V poradně pro medulární karcinom je rutinně prováděno, ve spolupráci s dr. Bendlovou z ústavu, genetické vyšetření u nemocných a jejich pokrevných příbuzných. V roce 2005 se daří díky motolskému pracovišti zavést do rutinní praxe podání rekombinantního TSH jako jedné z alternativ přípravy nemocných před léčbou radiojodem. Na podzim 2006 získává klinika zcela novou hybridní SPECT/CT kameru, která zásadním způsobem umožňuje zpřesnit diagnostiku, a tím výrazně zvýšit výtěžnost scintigrafického vyšetření.

V současnosti na klinice pracuje kolem 60 zaměstnanců. Registr kliniky tvoří 45 000 pacientů, dispenzarizováno je 8600 pacientů s diferencovaným tyreoidálním karcinomem. Na lůžkovém oddělení je ročně hospitalizováno kolem 1100 pacientů (z toho přes 95 % karcinomů). V endokrinologické ambulanci je ročně vyšetřeno kolem 15 000 a v ambulanci nukleární medicíny 6000 pacientů. Z malého oddělení se tak časem stalo největší pracoviště svého druhu u nás, které poskytuje superkonziliární péči v tyreoidální onkologii prakticky pro celou republiku.

## DOPORUČENÁ LITERATURA

1. **Bednář, J., Němec, J., Zamrazil, V. et al.:** Serum thyroglobulin determination patients with differentiated thyroid carcinoma. Nucl. Med., 1983, 22, s. 204-211.
2. **Němec, J., Nývtová, O., Preiningerová, M. et al.:** Positive thyroid cancer scintigraphy using <sup>99</sup>Tcm Tetrofosmin: A preliminary report. Nucl. Med. Comm., 1995, 16, s. 694-697.
3. **Neradilová M, Němec J.:** Medullary thyroid cancer-diagnosis and active screening. Radiobiol. Radiother., 1987, 28, s. 719-722.
4. **Němec, J., Vlček, P., Bílek, R. et al.:** The importance of repeated plasma thyroglobulin measurements in follow - up studies of differentiated thyroid cancer. The Thyroid Gland 1996, 2, s. 39-44.
5. **Němec, J., Zamrazil, V., Dvořák J. et al.:** Survival of thyroid cancer patients in a group of 3285 patients followed for up to 40 years. 3rd European congress of endocrinology. Eur. J. Endocrinol., 1994, 130 (Suppl. 2), s. 240.
6. **Němec, J., Chytrý, P., Dvořák, J. et al.:** Vliv pohlaví na prevalenci a přežití karcinomu štítné žlázy. Vnitř. Lék., 1996, 42, s. 602-604.
7. **Neradilová, M., Soutorová, M., Vlček, P.:** Mnohočetná endokrinní neoplasie typu 2: Familiární varianta medulárního karcinomu štítné žlázy. Vnitř. Lék., 1992, 38, s. 850-859.
8. **Jindřichová, Š., Vlček, P., Bendlová, B.:** Genetické příčiny vzniku karcinomů štítné žlázy. Čas. Lék. čes., 2004, 143, s. 664-668.

## KNIHY

### PRAKTICKÁ KOMUNIKACE V MEDICÍNĚ PRO MEDIKY LÉKAŘE A OŠETŘUJÍCÍ PERSONÁL

Praha, Grada Publishing, 2006, 152 s., 1. vydání první, formát 145x205 mm, brož., čb., cena 245 Kč. ISBN 978-80-247-1784-5.

Kniha pojednávající o komunikaci v medicíně upoutala moji pozornost ze dvou důvodů. Tím prvním je fakt, že publikací zabývajících se tímto tématem není v naší literatuře mnoho, tím druhým je fakt, že komunikace patří k mimořádně důležitým lidským činnostem. Komunikace je totiž jedním z nezastupitelných atributů života. Mnohdy sice jen v neverbální formě, která probíhá v přírodě a které doposud zcela nerozumíme, i když o její existenci nepochybujeme. Tvrzení, že „vše živé spolu vzájemně komunikuje“ by mělo být zařazeno mezi axiomy.

Vzhledem k rozsáhlosti duševního života člověka a lidské činnosti je nejkomplikovanější komunikace u člověka. Z minulosti

si člověk přinesl její neverbální formy, které však (pro jejich přílišnou jednoduchost a nejednoznačnost) nahradil formou komunikace verbální. Ta je schopna vyjádřit nejen „všechna hnutí mysli“, ale i složité vztahy faktů v několika desítkách věd (oboje v několika tisících jazycích). Později k mluvenému slovu přibýly jiné způsoby formálního vyjádření slov (písmo, šifry, Morseova abeceda atd.).

Někdy si spolu nerozumíme, nebo spolu nevhodně komunikujeme. Komunikace může být chybná buď obsahově (komunikující mají pro stejný výraz nesterépné představy), nebo po formální stránce.

V medicíně se uplatňují oba druhy chyb. Doc. V. Linhartová se věnuje v této knize té druhé skupině. A mohu potvrdit, že tak činí způsobem mimořádně zdařilým.

Odborný text útlé knihy (152 s.) je rozdělen do 8 kapitol: O komunikaci, Neverbální komunikace, Verbální i neverbální komunikace, Komunikace v medicíně, Komunikace s pacienty se specifickými potřebami (Pacienti psychicky labilní, Pacienti agresivní, Pacienti úzkostní, Pa-

cienti pedantičtí, Pacienti depresivní, Pacienti sociálně slabí, Pacienti s trvalým poškozením, Pacienti s poruchou řeči), Komunikace se smyslově postiženými pacienty (nevidomí, neslyšící, hluchoslepí – mimochodem výborně zpracovaná témata), Sdělování špatných zpráv. Kapitola Sestra se musí stát lékařem partnerem odbornou část uzavírá. Kniha je psána pěknou češtinou, velmi dobře se čte. Sled jednotlivých kapitol je logický, jejich rozsah proporcionální. V textu je řada pěkných tabulek, použitá literatura je vesměs moderní, rejstřík rozsahem přiměřený.

**S mimořádným zájmem jsem četl kapitoly o komunikaci s hendikepovanými nemocnými – a jsem přesvědčen, že by je měli číst skutečně všichni zdravotníci – zdravotními sestrami–žákyněmi počínaje a primáři konče. (S pocity studu jsem četl některé „kazuistiky“ hendikepovaných o jejich zážitcích se zdravotníky).**

Jan Petrášek  
128 08 Praha 2, U Nemocnice 1

## ZPRÁVY

**SPOLEK LÉKAŘŮ ČESKÝCH V PRAZE**

pořádá v dubnu pravidelné přednáškové večery s diskuzí. Začátek je vždy v 17 hodin v Lékařském domě v Praze 2, Sokolská ulice 31.

**DNE 2. DUBNA 2007**

Přednáškový večer Neurologické kliniky 1. LF UK a VFN v Praze  
přednosta: prof. MUDr. Evžen Růžička, DrSc.

**Hennerův večer**

Koordinátor: prof. MUDr. Evžen Růžička, DrSc.

1. E. Růžička: Úvod (5 min)
  2. E. Růžička: Kamil Henner a mozeček (10 min)
  3. J. Tichý: Vír vlasů a mozečková dominance (10 min)
  4. J. Bauer: Od mrtvice k iktu (10 min)
  5. E. Havrdová: Vývoj nádorů na původ a terapii roztroušené sklerózy (10 min)
  6. E. Nešpor: Hennerův pohled na epilepsii – co zůstalo (10 min)
- Diskuze

**DNE 16. DUBNA 2007**

Přednáškový večer Ústavu pro péči o matku a dítě v Praze  
ředitel: doc. MUDr. Jaroslav Feyereisl, CSc.

**Traplův večer****Onkologie**

Koordinátor: doc. MUDr. Jaroslav Feyereisl, CSc.

1. J. Feyereisl: Úvod (5 min)
  2. P. Šafář: Přehled onkogynekologie v ÚPMD za posledních 5 let (8 min)
  3. P. Šafář: Kontroverze operační léčby karcinomu ovaria (8 min)
  4. M. Verner: Kontroverze operační léčby karcinomu endometria (8 min)
  5. R. Turyna: Kontroverze operační léčby karcinomu děložního hrdla (8 min)
  6. J. Drahoňovský: Laparoskopická lymfadenektomie. Technika, indikace, zkušenosti (8 min)
  7. E. Kučera: Minimální invazivní techniky v onkogynekologii (8 min)
  8. J. Hejda: Kazuistika z pohledu gynekopatologa (8 min)
- Diskuze

**DNE 23. DUBNA 2007**

Přednáškový večer Ortopedické kliniky dětí a dospělých 2. LF UK a FN Motol  
přednosta: doc. MUDr. Tomáš Trč, CSc., MBA

**Popelkův večer****Nové postupy v operativě kyčelního kloubu**

Koordinátor: doc. MUDr. Tomáš Trč, CSc., MBA

1. T. Trč: Úvod (5 min)
  2. P. Chládek, T. Trč, V. Řeháček: Femoroacetabulární impingement a jeho chirurgické řešení (10 min)
  3. A. Schejbalová: Spastická kyčel – strategie chirurgické léčby (10 min)
  4. P. Chládek, T. Trč, A. Schejbalová: Dysplastické acetabulum – současné možnosti řešení (10 min)
  5. T. Trč: Resurfacing kyčelního kloubu (10 min)
  6. T. Trč: Proximálně fixované TEP kyčelního kloubu (10 min)
  7. T. Trč, J. Frýd, P. Chládek: Miniinvazivní přístupy v endoprotetice kyčelního kloubu (10 min)
  8. T. Trč: Závěr (5 min)
- Diskuze

**DNE 30. DUBNA 2007**

Přednáškový večer Kliniky dětské chirurgie 2. LF UK a FN Motol  
přednosta: prof. MUDr. Jiří Šnajdauf, DrSc.

**Kafkův večer, věnovaný 95. narozeninám  
prof. MUDr. Václava Tošovského, DrSc.  
Dětská chirurgie – dlouhodobé výsledky**

Koordinátor: prof. MUDr. Jiří Šnajdauf, DrSc.

1. J. Šnajdauf: Úvod (5 min)
  2. M. Šimsová: Malrotace (10 min)
  3. A. Kučera: Poranění pankreatu (10 min)
  4. J. Trachta: Atrézie duodena (10 min)
  5. P. Kuklová: Strikтуры jícnu (10 min)
  6. L. Kalvacová: Ren arcuatus (10 min)
- Diskuze

*prof. MUDr. Jan Kvasnička, DrSc., vědecký sekretář  
prof. MUDr. František Kölbl, DrSc., předseda*

Spolek českých lékařů v Praze je držitelem akreditace České lékařské komory čj. 003/16/2001 ke školení v systému celoživotního vzdělávání lékařů. Účast na večeru je hodnocena 2 kredity, pro přednášejícího dle platných směrnic ČLK. Potvrzení o účasti vydá na žádost sekretář spolku.



## KNIHY

**Blahoš, J., Zamrazil, V. (ed.):  
ENDOKRINOLOGIE –  
INTERDISCIPLINÁRNÍ OBOR**

Praha, Triton, 2006, 506 s., 799 Kč. ISBN 80-7254-788-7.

Editoři vybrali odborníky z hlavních lékařských oborů, aby sami, nebo častěji ve spolupráci s endokrinology rozebrali uplatnění endokrinologie v jednotlivých lékařských oborech. Kniha má endokrinologům i neendokrinologům poskytnout základní poznatky o účasti hormonů a neurohormonů na různých klinických projevech lidských nemocí. V úvodu editoři podávají základní definice a rozebírají klinickou fyziologii nervového, endokrinního a imunitního systému s důrazem na jejich propojení. Jednadvacet odborníků pak rozebírá jednotlivé systémy. J. Blahoš rozebírá hypothalamo-hypofyzární systém a funkce epifyzy. V oddíle „základní poznatky“ nejprve V. Zamrazil pojednává o nemocech štítné žlázy, I. Stárka o funkci a funkčních poruchách nadledvin, tentýž autor pak o patofyziologii funkce varlat, Cíbula a Stárka rozebírají ovaria. J. Blahoš podává přehled kalcotropních hormonů a řízení kalciofosfátového metabolismu, Zamrazil rozebírá tzv. difuzní endokrinní systém (tkáňové hormony) a další hormonálně aktivní systémy, Jabor popisuje natriuretické peptidy srdeční a mozkové. Všechny tyto stati jsou jakýmsi repetitoriem endokrinologie a budou k užítku nejen lékařům jiných oborů ale i endokrinologům.

Ve druhém a hlavním oddíle knihy „Endokrinologie a další lékařské obory“ je hlavní přínos knihy. P. Barták rozebírá kožní projevy endokrinních poruch. C. Dostál endokrinní vlivy v revmatologii a pak podává přehled o použití glukokortikoidů a jejich analog v léčbě revmatických onemocnění, V. Hainer se zabývá endokrinním systémem při obezitě, J. Homolka endokrinním systémem a pneumologií včetně bronchogenního karcinomu, C. Höschl endokrinním systémem a psychiatrií – v řadě tabulek pro čtenáře podává přehledně tuto komplexní problematiku – R. Kočvara, M. Hanuš a L. Stárka se zabývají endokrinní problematikou v urologii (včetně karcinomu prostaty a jeho diferenciace od benigní prostatické hypertrofie, I. Lazúrová rozebírá vztahy endokrinologie a kardiologie včetně EDRF-NO, adrenomedulinu a endogenního ouabainu v kúry nadledvin (což je asi spíše ouabagenin) a ovšem významnou roli mineralokortikoidů v kardiologii. J. Lébl přehledně informuje o růstu a zrání dítěte se zřetelem k hormonálním vlivům, L. Machala a H. Rozsypal podávají přehled významu endokrinního systému při infekcích včetně postižení endokrinních žláz při infekcích, I. Šterzl a P. Hrdá rozebírají komplexní vztahy mezi endokrinním a imunitním systémem. J. Štolfa se reumatologií zabývá z druhé strany – jak revmatické choroby a jejich léčbu ovlivňuje neuroendokrinní systém. P. Vlček podává přehled nukleární medicíny a jejího uplatnění v endokrinologii, K. Vondra a V. Zamrazil se zabývají endo-

krinním systémem a diabetem, H. Vondrová rozebírá nervové poruchy při endokrinopatiích, J. Widimský jr. endokrinní hypertenzi, Z. Zadák endokrinními aspekty poruchy výživy a energetického metabolismu, M. Zavoral a F. Závada vztahy mezi endokrinním systémem a trávicím ústrojím. Neobyčejně užitečná je kapitola T. Zimy o uplatnění klinické biochemie v endokrinologii – užitečné obrázky i přehledné tabulky normálních hodnot patří k nejpříhodnějším oddílům knihy. Konečně J. Živný pojednává o endokrinologii stárnoucí ženy a o hormonální substituční terapii v menopauze. Střízlivě a na úrovni nejnovějších poznatků o rizicích a výhodách podává ucelený návod k lékařskému postupu.

Všechny kapitoly jsou ukončeny většinou dosti stručnými přehledy literatury, ale to pro základní orientaci stačí. Jak editoři v úvodu předznamenávají, jde o prvé takové dílo v naší i mezinárodní literatuře a poskytne užitečnou informaci jak začínajících endokrinologům, tak zejména lékařům jiných oborů. Editoři očekávají, že dílo bude postupně doplňováno i o statě, které v 1. vydání ještě nejsou, a že se dále zaměří na to, co je pro praxi, odborníky různých oborů a nakonec i endokrinology nejdůležitější.

**Zejména pro praktické rodinné lékaře je to kniha velice užitečná – po denním shonu si mohou zjistit, jak to mezi oborově vše souvisí a kdy mají žádat konzultaci odborníka.**

Vratislav Schreiber  
101 00 Praha 10, Žitomířská 39

**ANAFYLAKTICKÁ REAKCE**

Praha, Jessenius Maxdorf, 2006, 1. vydání první, 95 s., formát 110x190 mm, brož., čb., cena 195 Kč. ISBN 80-7345-099-2.

Termín *anafylaxe* je odvozen z řeckého výrazu *phylaxis* znamenající *ochranu*. Anafylaxe je pak nedostatek ochrany. Klinicky je anafylaxe definována jako „soubor náhle vzniklých závažných a život ohrožujících symptomů vyskytujících se současně na několika orgánech nebo systémech (CNS, plíce, ledviny, kůže, kardiovaskulární systém, zažívací systém, aj.)“. Nejzávažnější formou anafylaktické reakce je anafylaktický šok – obávaný kritický stav, kdy nemocnému zbývá zpravidla již jen málo života a lékaři již jen málo času, aby odvrátil smrtelnou katastrofu. Naštěstí není anafylaktický šok příliš častý. Odhaduje se, že v České republice je každoročně hospitalizováno cca 2000 nemoc-

ných pro závažné alergické reakce a asi 5 nemocných v šoku umírá (není to ale jen špička ledovce?).

Napsání tohoto titulu se ujali doc. MUDr. Vít Petrů, CSc. a MUDr. Irena Krčmová, CSc., oba známí alergologové – imunologové a zkušení pedagogové.

Útlá kniha kapesního formátu vychází v oblíbené knižnici *Farmakoterapie pro praxi*. Má rozsah 95 stran, text je doplněn 9 přehlednými tabulkami a ilustrován 7 černobílými obrázky. Je rozdělen do 8 kapitol, první a poslední jsou formální (Úvod, Závěr), 6 je odborných. Druhou kapitolou je Repetitorium (Historie, Definice, Výskyt, Etiopatogeneze, na 13 stranách), třetí Diagnostika a diferenciální diagnostika (30 s.), Klinický obraz (5 s.), Léčba anafylaxe (14 s.) a Možnosti prevence (4 s.). Kapitola nazvaná Chyby a omyly v diagnostice a léčbě anafylaxe odbornou část knihy uzavírají. Abecední seznam literatury (proč abecední?) je při-

měřený rozsahem, uváděné prameny jsou aktuální. Seznam zkratk je úplný, rejstřík odpovídá rozsahu knihy.

Text je psán dobrou češtinou a lehce se čte, jeho odborná úroveň odpovídá očekávané cílové skupině čtenářů. Pro praxi budou pravděpodobně nejpříhodnější kapitoly Diagnostika, diferenciální diagnostika a léčba anafylaxe. Pozornosti by však neměla uniknout také poslední odborná kapitola Chyby a omyly v diagnostice a léčbě anafylaxe, protože jen uvědomění si, že nějaký postup je chybou, umožňuje se jí v budoucnu vyvarovat.

**Komu knihu doporučit? Nad touto otázkou nejsem tentokrát v rozpacích. Měli by ji skutečně číst všichni lékaři, protože „strašidlo anafylaktického šoku obchází všemi lékařskými obory“.**

Jan Petrášek  
128 08 Praha 2, U Nemocnice 1

## LAUREÁTI NOBELOVY CENY

## ROBERT KOCH

(1843–1910)

Robert Koch se narodil 11. prosince 1843 ve městě Clausthal v rodině důlního inspektora. V dětství měl řadu zájmů. Vytvářel herbář, sbíral brouky, motýly a minerály, upoutalo ho fotografování. Po absolvování místního gymnázia odešel (1862) studovat medicínu na univerzitu v Göttingenu, ne „velkou školu v malém městě“. Studentův zájem o vědeckou práci tu podnítili patolog Krause a fyziolog Meissner. Za studii „gangliové buňky v nervstvu dělohy“ Koch získal univerzitní cenu třicet dukátů. Po univerzitním absolutoriu (1866) byl přijat na dočasné asistent-ské místo ve všeobecné nemocnici v Hamburku. Zde ho zastihla periodická epidemie cholery. Smysl pro pátrání po původci choroby je již patrný z poznámky o pozorování v protokolu. Pozoruje „jemné prohnuté anebo vlnkovité struktury bičíkového tvaru“. Je to prvý popis mikroba, kterého později identifikuje jako cholerné vibrio.

Po vypuknutí francouzsko-pruské války (1870) se Koch přihlásil jako dobrovolník do vojenské služby. Stereotypní práce v polní nemocnici jeho touhu po dobrodružství nenaplnovala. Po propuštění z armády byl jmenován okresním zdravotním radou se sídlem ve Wallsteinu. Vedle dozoru nad nemocnicemi vykonával i soukromou praxi. V malé místnosti přiléhající ke kanceláři pro konzultace si zařídil improvizovanou velmi primitivní laboratoř. V ní začal v roce 1873 studovat sněh slezinou, která byla ve wallsteinském okrese velmi rozšířena. Onemocnění chápal jako antropozoonózu. Neobyčejně jednoduchou invenčně bohatou metodikou prokázal, že původcem sněhi slezinné je *Bacillus anthracis*. Klíčovou práci o „etiologii anthraxu založené na vývojevém cyklu bacila anthraxu“ publikoval v časopise *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* (1877, 2, s. 277–310). Publikace Kocha, venkovského lékaře, rázem postavila do čela nově vznikající vědecké disciplíny – bakteriologie. V roce 1877 uveřejnil i práci o metodologii v bakteriologii a o využití mikrofotografie.

Předělem v bakteriologii, ale i ve studiu patogeneze infekčních onemocnění, se stal článek „o studiu patogenních mikroorganismů“, který byl zařazen jako úvodník do nově založeného časopisu *Mitteilungen aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt* (1881). Zde Koch zveřejnil soubor pravidel a postupů, které je třeba zachovávat při hledání příčinné souvislosti mezi předpoklá-

daným původcem choroby a jejími klinickými projevy. Tyto „Kochovy postuláty“ prověřuje jako platné i soudobá molekulární bakteriologie. Významná část publikace byla věnována přípravě čistých bakteriálních kultur. I v tom je třeba vidět přínos Kochovy bakteriologické školy. Při příležitosti mezinárodního lékařského kongresu v Londýně v roce 1881 Koch demonstroval v Listerově laboratoři agarové kultivační plotny jako prostředek pro izolaci bakteriálních čistých kultur. Pasteur mu po demonstraci řekl památnou větu: „C'est un grand progrès, Monsieur.“

Dne 18. srpna 1881 naočkovali v Kochově laboratoři morčata fragmenty tkáně odebrané z opice uhynulé na tuberkulózu získanou přirozenou cestou. Výsledky pokusů byly jedinečné. Koch se proto rozhodl pro jejich sdělení na zasedání berlínské fyziologické společnosti. Stalo se tak 24. března 1882. Posluchači tísňící se v posluchárně se stali svědky rozřešení etiologie tuberkulózy. Potlesk, jímž byl přednášející zahrnut, byl bezbřehý. Paul Ehrlich hodnotil přednášku slovy: „Všichni přítomní byli hluboce pohnuti. Ten večer zůstal mým největším zážitkem ve vědě.“ Za dva roky přinesl věstník *Reichsgesundheitsamt Mitteilungen* (1884, 2, s. 1–88.) rozsáhlý objevný článek „Etiologie tuberkulózy“.

Koch se nejprve zabývá obtížemi při pokusech o průkaz etiologického agens v pitevím materiálu. Řešení přinesla technika diferenciálního barvení, při níž lze odlišit tuberkulózní bakterie od tkáňových struktur a kontaminujících bakterií. Publikace velmi podrobně popisuje tkáňové změny a sleduje jejich rozvoj především při plicní formě onemocnění. Jako důležitou diagnostickou pomoc vyzdvihuje nález tuberkulózních bacilů v sputu. V experimentální části je věnována zvláštní pozornost rozvoji procesu u morčat. Je zdůrazněno, že pokusně vyvolané onemocnění má obdobný ráz jako přirozená infekce. Mykobakterie jsou praví parazité, jejich jediným rezervoárem je člověk. Při vzniku onemocnění člověka se uplatňuje zděděná náklonnost.

Zrodila se bakteriologie a slavila i další úspěchy. Kochovi žáci a spolupracovníci objevili řadu původců infekčních onemocnění. Když vypukla v Egyptě roku 1883 cholera, požádali Egyptaně německou vládu o pomoc. Expedici vedl Robert Koch. Nasbíral mnoho dat o původci onemocnění, který byl nazýván *vibrio-comma*. V bádání pokračoval v Indii, kde byla endemická ložiska cholery. V Kalkatě kultivoval na želatině cholerná vibria identická s egyptskými.

V roce 1885 byl Koch instalován na stoličnici hygieny berlínské univerzity. Do prosulého ústavu za ním přicházejí vynikající spolupracovníci: Kitasato (1885), Pfeiffer (1887), Behring (1889), později Ehrlich a Uhlenhuth. Koch se zcela soustřeďuje na svůj sen: přinést medicíně léčebný prostředek na potírání tuberkulózy. Příležitost k seznámení lékařské veřejnosti s novým zatím nepojmenovaným „lékem“ nabídl 10. mezinárodní lékařský kongres v Berlíně v roce 1890. V přednášce „bakteriologický výzkum“ se Koch nejprve zabýval cestami, které mohou vést k léčebným preparátům. Po obecných úvahách oznámil, že po řadě neúspěchů objevil substanci, která brání růstu tuberkulózních bacilů jak v kultuře, tak *in vivo*. Rezistenci k onemocnění lze vyvolat u morčete, s velkou pravděpodobností i u člověka. Za tři měsíce, na konci roku 1890, přinesl odborný časopis *Deutsche medizinische Wochenschrift* (1890, 16, s. 1029,) „zprávu o léčebném agens pro tuberkulózu.“ Koch se v ní zatím vyhnul přesným údajům o novém preparátu. Uměřeně napsal, že dosažených výsledků nelze využít bezvýběrově u člověka. Úspěchů lze dosáhnout jen u časných forem onemocnění, vždy je žádoucí i podpůrná léčba. „Agens“ může být s úspěchem využito i v diagnostice. Přes Kochovy výzvy k obezřetnosti se do Berlína sjížděly celé skupiny tuberkulózních pacientů a dožadovaly se léčení. Preparát se podával i v hotelích. Diagnostická a prokazatelná hodnota preparátu naprosto ustupovala do pozadí. V roce 1891 „agens“ dostalo jméno: tuberkulin. Po řadě neúspěchů přestal být jako léčebný prostředek využíván.

Univerzitní aktivity Kochovi bránily v soustředění se na badatelskou práci. Řešením se stalo v roce 1891 zřízení Institutu pro infekční nemoci, kde se kolem Mistra soustředili nejvýraznější představitelé německé bakteriologie.

V roce 1896 byl Koch požádán anglickou vládou, aby pomohl potírat v jižní Africe dobytčí mor. S neobyčejnou invencí navrhl účinnou imunizaci kombinací krve a séra rekonvalescentních zvířat. Z kapské kolonie odejel do Asie, kde se šířil mor. Následovala návštěva protiepidemické komise v Indii a brzy na to německé východní Afriky. Všude byl úkol společný: zastavit šíření moru. Šedesáté narozeniny v roce 1904 Koch oslavil v Rhodesii, kde se vedle odborné činnosti amatérsky věnoval archeologii. Po návratu se vzdal vedení ústavu. V práci však pokračoval. Byl rozhodnut „sloužit vědě tak dlouho, jak mu síly dovolí“. V roce 1905 odjel do Afriky

znovu, aby se tam věnoval studiu návratné horečky a trypanosomiázy. V témže roce byl poctěn Nobelovou cenou. Ve slavnostní přednášce „o kontrole tuberkulózy“ se nevyhnul otázce léčby tuberkulínem. V následujících letech byl zahrnut řadou dalších poct a vyznamenání.

V Kochově povaze nalézají životopisci sklony k romantismu a dobrodružství. V patnácti letech se hluboce zamiloval do sestřenice Agathe Goedicke a psal jí emocionální dlouhé dopisy. Trvalé přátelství osvědčil péčí o jejího syna, kterého uváděl do bakteriologie a vědy. Když se mu v mládí naskytla možnost otevřít si v Langenhagenu vedle hlavního povolání v Ústavu pro mentálně postižené děti soukromou praxi, oženil se v roce 1867 s Emmy Frantz.

Jejich vztah se v průběhu let rozpadal a skončil rozvodem. Jako padesátiletý vášnivě vzplanul k mladé herečce Lessingova divadla Hedwig Freiberg. Vztah byl završen v roce 1893 svatbou. Mladistvá manželka Kocha doprovázela velmi oddaně při všech zahraničních expedicích. V roce 1904 manželský pár navštívil Pasteurův ústav. Hostitelem mu byl Mečnikov. Při návštěvě Louvru Koch projevoval velké znalosti výtvarného umění. Asketického Mečnikova však překvapoval zájem o francouzskou kuchyni a stolování. V roce 1908 manželé podnikli triumfální cestu do Spojených států amerických. Zemí jejich srdce se stalo Japonsko, kde byl jejich pozorným průvodcem někdejší Kochův žák a později spolupracovník Kitasato. Manželům nebylo dopřáno ukončit „cestu kolem světa“

v Číně. Koch byl odvolán a delegován na mezinárodní kongres ve Washingtonu, aby tam upevňoval respekt vědecké obce k německé bakteriologii. Vystoupil s přednáškou o vztahu lidské a bovinní tuberkulózy.

V březnu 1910 se přihlásilo onemocnění srdce. Koch je tvrdošíjně přemáhal. Po výrazném zhoršení lékaři zařídili převoz do sanatoria v Baden-Badenu, kde velký Mistr 27. května 1910 zemřel. Před smrtí projevil přání, aby byl zpopelněn. Urna byla uložena za mramorovou desku s reliéfem jeho profilu a daty narození a úmrtí. Výčet jeho děl a činností uvedený na desce v Mauzoleu Roberta Kocha je ohromující.

prof. MUDr. Ctirad John, DrSc.  
120 00 Praha 2, Trojanova 3

## VÝZNAM OBJEVU ROBERTA KOCHA

Robert Koch nepochybně patří k mimořádným velikánům světové vědy, kteří svou prací položili základy několika medicínským oborům. V případě Roberta Kocha je nutno zmínit bakteriologii, hygienu a epidemiologii, ftizeologii a imunologii.

Svůj vědecký zájem, pečlivost a důslednost prokázal Koch již během školních let a později pokračoval ve vědecké práci ve skromných podmínkách vlastní laboratoře. Považoval se za žáka Jacoba Henleho (1809–1885).

V roce 1876, ve svých 33 letech uveřejnil práci: „Die Ätiologie der Milzbrand-Krankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des Bacillus Anthracis“, ve které byla bez nejmenších pochybností poprvé dokázána infekční příčina sněti slezinné. Pro izolaci bakterií Koch používal pevné půdy, které vyvinul botanik Ferdinand Cohn (1828–1898). Techniku fixace a barvení histologických preparátů se Koch naučil během studijního pobytu u patologa Julia Cohnheima (1838–1884). Tuto techniku použil Koch při studiu infekcí ran, při kterých potvrdil teorie Josepha Listera a Ignaze Phillippa Semmelweise.

V roce 1881, ve svých 38 letech provedl Koch řadu pokusů s tuberkulózní tkání, kterou injikoval morčatům, králíkům a pomocí speciálního barvení a při použití speciálních půd objevil vyvolavatele tuberkulózy. Toto je nepochybně největší objev

Roberta Kocha. Svou přednášku „Über die Ätiologie der Tuberkulose“ Koch proslavil dne 24. března 1882 na schůzi Berlínské fyziologické společnosti. Koch záměrně nepřednášel o etiologii tuberkulózy na schůzi Berlínských patologických anatomů, protože se chtěl vyhnout střetu s patologem Rudolfem Virchowem (1821–1902), který v infekční původ tuberkulózy nevěřil. Virchow tuberkulózní infiltrát považoval za zánět, tuberkulózní uzlík za nádor – duální teorie tuberkulózy. Jako publikace byla Kochova práce o etiologii tuberkulózy otištěna v Berliner Klinische Wochenschrift dne 10. dubna 1882.

Během hledání vyvolavatele tuberkulózy Koch formuloval 3 postuláty definující podmínky, které musí být splněny, aby byla jednoznačně prokázána příčinná souvislost mezi určitým mikroorganizmem a nemocí (Kochovy postuláty): 1. postulat – mikroorganismus musí být nalezen v každém případě onemocnění, 2. postulat – mikroorganismus nesmí být nalezen jako nahodilý nebo neškodný při jiném onemocnění, 3. postulat – mikroorganismus po izolaci a kultivaci musí vyvolat po aplikaci hostiteli v čisté kultuře totéž onemocnění.

V roce 1890 Koch izoloval z kultur tuberkulózních bacilů extrakt – tuberkulín. K objevu tuberkulinu dospěl experimenty, které jsou základem imunologie tuberkulózy. Koch při nich formuloval rozdíly v primoinfekci a reinfekci tuberkulózou (3 základní pokusy Kochovy).

Ani velcí badatelé nejsou imunní vůči omylům. Koch se mylně domníval, že tuberkulín bude možno použit k léčbě tuberkulózy. Během aplikace tuberkulinu lidem, ale poznal svůj omyl a od léčebného podávání tuberkulinu ustoupil.

Objevit původce choroby, která i v současnosti zabíjí ročně na celém světě 3 miliony lidí, je nesmírně významný čin. Roberta Kocha k tomuto objevu dovedlo nadání, důslednost, systematickost, píle a v neposlední řadě také odvahy, protože řada jeho vrstevníků bádání v oblasti tuberkulózy zaplatila vlastním životem.

## DOPORUČENÁ LITERATURA

1. **Flick, L. F.:** Development of our knowledge of tuberculosis. Wickershaw Printing Co., Philadelphia, 1925, 783 s.
2. **Jedlička, J.:** Klinika plicní tuberkulózy. Praha, Česká grafická unie a.s., 1940, 336 s.
3. **Jedlička, J.:** Tuberkulóza. Praha, Státní nakladatelství učebnic, 1951, 327 s.
4. **Levinský, L.:** Tuberkulóza dýchacího ústrojí. Praha, Státní pedagogické nakladatelství, 1964, 136 s.
5. **Homolka, J., Votava, V.:** Tuberkulóza, 3. vyd. Praha, Karolinum, 2003, 79 s.

prof. MUDr. Jiří Homolka, DrSc.  
I. klinika tuberkulózy a respiračních  
nemocí 1. LF UK a VFN  
120 00 Praha 2, Kateřinská 19



Trpělivost je umění doufat.

J. VAUVENAGRUES