

KLINICKÁ BIOCHEMIE A METABOLISMUS

ČÍSLO 1 • BŘEZEN 2013 • ROČNÍK 21 /BCB 42/

VEDOUcí REDAKTOR

RNDr. B. Friedecký, Ph.D.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice, Hradec Králové
a SEKK, s. r. o., Pardubice

ZÁSTUPCE VEDOUcíHO REDAKTORA

Ing. J. Vávrová, Ph.D.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice, Hradec Králové

REDAKČNÍ RADA

Doc. RNDr. T. Adam, Ph.D.

Laboratoř dědičných metabolických poruch
OKB, Fakultní nemocnice, Olomouc

Doc. MUDr. Milan Dastych, CSc., MBA

Oddělení klinické biochemie a hematologie,
FN Brno-Bohunice

Prof. MUDr. M. Engliš, DrSc.

Thomayerova nemocnice, Praha

Prof. MUDr. J. Hyánek, DrSc.

OKBHI, Nemocnice Na Homolce, Praha

Prof. MUDr. A. Jabor, CSc.

Pracoviště laboratorních metod, IKEM, Praha

Prof. MUDr. A. Kazda, DrSc.

ÚLBLD 1. LF UK a VFN, Praha

MUDr. P. Kocna, CSc.

ÚLBLD 1. LF UK a VFN, Praha

Prof. MUDr. Viktor Kožich, CSc.

Ústav dědičných metabolických poruch
VFN a 1. LF UK, Praha

Prof. MUDr. V. Palička, CSc., Dr.h.c.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky
Fakultní nemocnice, Hradec Králové

Prof. MUDr. R. Průša, CSc.

Ústav klinické biochemie a patobiochemie 2. LF UK,
Praha

Prof. MUDr. J. Racek, DrSc.

Ústav klinické biochemie a hematologie LF UK a FN,
Plzeň

MUDr. P. Sečník

Klinické laboratórium, SK-Lab
Lučenec, Slovenská republika

Doc. MUDr. P. Schneiderka, CSc.

Katedra biomedicínských oborů, LFOU, Ostrava

PharmDr. J. Skalický, Ph.D.

Oddělení klinické biochemie,
Krajská nemocnice Pardubice

Doc. RNDr. P. Štern, CSc.

ÚLBLD VFN a 1. LF UK
Katedra klinické biochemie IPVZ, Praha

Prof. RNDr. M. Tichý, CSc.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky
Fakultní nemocnice, Hradec Králové

RNDr. M. Votruba, CSc.

Mi-Vo-La,
Praha

Prof. MUDr. Z. Zadák, CSc.

Klinika gerontologická a metabolická
LF UK a FN, Hradec Králové

Prof. MUDr. T. Zima, DrSc., MBA

Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky
1. LF UK a VFN, Praha

OBSAH

Editorial

B. Friedecký: Stanovení odhadu glomerulární filtrace eGFR -
vývoj pokračuje.....3

Kelbich P., Hejčl A., Procházka J., Selke Krulichová I., Peruthová J.,
Hanuljaková E., Špička J.: Buněčnost likvoru, energetické
poměry v likvorovém kompartmentu a intenzita zánětlivé
odpovědi v centrálním nervovém systému6

Hejčl A., Kelbich P., Bolcha M., Procházka J., Hušková E.,
Peruthová J., Sameš M.: Význam a možnosti vyšetřování
metabolismu mozku pomocí mikrodialýzy
v neurointenzivní péči 13

Fuchsová R., Topolčan O., Klečka J., Vrzalová J., Hora M.,
Kučera R., Dolejšová O., Hes O.: Stanovení sérových hladin
markerů v diagnostice časného karcinomu prostaty
(pilotní studie)21

Šálek T., Moravčíková D., Humpolíček P., Tichý M., Palička V.:
Prevalence míry snížení glomerulární filtrace u pacientů
s monoklonální gamapatií neurčeného významu.25

Bronský J., Mitrová K.: Nové regulační hormony
mateřského mléka30

Osobní zprávy

Kratochvíla J., Palička V.: Smuteční oznámení -
Prof. Dr. Hermann Wisser39

Doporučení

Doporučení pro diagnostiku a léčbu onemocnění štítné žlázy
v těhotenství a pro ženy s poruchou fertility41

CONTENTS

Editorial

B. Friedecký: Estimation of glomerular filtration eGFR -
development continues3

Kelbich P., Hejčl A., Procházka J., Selke Krulichová I., Peruthová J.,
Hanuljaková E., Špička J.: Number of cells in the cerebrospinal
fluid, energy relations in the cerebrospinal fluid compartment
and intensity of inflammatory response in the central
nervous system6

Hejčl A., Kelbich P., Bolcha M., Procházka J., Hušková E.,
Peruthová J., Sameš M.: Significance and possibilities
to examine brain metabolism by microdialysis
in neurointensive care 13

Fuchsová R., Topolčan O., Klečka J., Vrzalová J., Hora M.,
Kučera R., Dolejšová O., Hes O.: Changes in serum levels
of markers in early detection of prostate cancer (pilot study)21

Šálek T., Moravčíková D., Humpolíček P., Tichý M., Palička V.:
The prevalence of decreased glomerular filtration rate
in patients with monoclonal gammopathy
of undetermined significance25

Bronský J., Mitrová K.: New regulation hormones
of the breast milk30

Obituary

Kratochvíla J., Palička V.: Prof. Dr. Hermann Wisser39

Recommendation

Recommendation for diagnosis and therapy of thyroid gland
disease for women in pregnancy and with impaired fertility41

<http://www.clsjep.cz>, www.cskb.cz

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2013

KLINICKÁ BIOCHEMIE A METABOLISMUS

Vydává Česká lékařská společnost J. E. Purkyně ve společnosti STAPRO s. r. o., Pernštýnské nám. 51, 530 02 Pardubice.

Vedoucí redaktor RNDr. Bedřich Friedecký, Ph.D., zástupce vedoucího redaktora Ing. Jaroslava Vávrová, Ph.D.

Odpovědná redaktorka RNDr. Lucie Korecká, Ph.D. Grafická úprava: Jan Korecký

Tiskne: Pardubická tiskárna Silueta s. r. o., Veská 75, 533 04 Sezemice. Vychází 4x ročně.

Předplatné na rok 470 Kč, jednotlivé číslo 117,50 Kč.

Informace o předplatném a inzerci podává a objednávky českých i zahraničních předplatitelů a inzerentů přijímá:

Jan Adamec, STAPRO, s. r. o., Pernštýnské nám. 51, 530 02 Pardubice, tel. 467 003 111; Registrační značka MK ČR E 6465.

Rukopisy zasílejte na adresu: Ing. Jaroslava Vávrová, Ph.D., ÚKBD LF UK a FN, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové.

Rukopis byl dán do výroby 19. 2. 2013.

Zaslané příspěvky se nevracejí, jsou archivovány. Vydavatel získá otiskem příspěvku výlučné nakladatelské právo k jeho 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 jakékoliv formě či jakýmkoliv způsobem, at již mechanickým nebo elektronickým, včetně pořizování fotokopíí, nahrávek, informačních databází na magnetických nosičích, bez písemného souhlasu vlastníka autorských práv a vydavatelského oprávnění.

Zařazení časopisu Klinická biochemie a metabolismus do pozitivního seznamu

Časopis Klinická biochemie a metabolismus je od 20. června 2008 zařazen do seznamu recenzovaných neimpaktovaných periodik vydávaných v České republice (tzv. pozitivní seznam). Tento seznam bude poradním orgánem vlády České republiky, Radou pro výzkum a vývoj, využíván při hodnocení výsledků výzkumu a vývoje podporovaných z veřejných prostředků, které jsou vykazovány jako články v českém odborném periodiku.

Stanovení odhadu glomerulární filtrace eGFR - vývoj pokračuje

Současný text doporučení České společnosti klinické biochemie a České nefrologické společnosti o postupech odhadu glomerulární filtrace-eGFR [1] ukazuje (společně například s textem doporučení o diabetu) rychlost, s jakou takové texty stárnou. Nejspíš rychlostí, připomínající pomalost, s níž se tvoří. Doporučení preferuje k výpočtu eGFR z kreatininu rovnicí MDRD (Modification of Diet in Renal Disease), vyžadující existenci standardizace jeho měření, danou návazností na referenční metodu GC (LC)/MS a referenční materiál NIST SRM 967. Pro rutinní měření kreatininu je dána přednost enzymatické metodě před nespecifickou metodou Jaffé. Doporučení také pojednává o alternativním stanovení eGFR na bázi měření sérového cystatinu C. V roce 2009, kdy bylo Doporučení vytvořeno, nebylo měření cystatinu C ještě možné standardizovat, protože tehdy nebyl k dispozici referenční materiál ERM-CRM 471, základ této standardizace. Hodnoty eGFR jsou proto v doporučení počítány ze dvou různých rovnic (Levey, Grubb) beroucích do úvahy dvě zásadně odlišné, v klinických laboratořích používané kalibrace.

Zásadní podmínkou úspěšného stanovení eGFR je standardizace měření kreatininu a cystatinu C. Stav stanovení kreatininu před rokem 2006 je zřejmý z práce uveřejněné v Arch. Pathol. Lab. Med. [2]. Tehdy vykazovalo 60 % hodnocených metod významnou hodnotu systematické chyby vůči referenci, a to v širokém intervalu -5 až 28 $\mu\text{mol/l}$ (+35 %). Naprostá nezbytnost ustanovení návaznosti měření sérového kreatininu k referenční metodě LC/MS a certifikovanému referenčnímu materiálu NIST-SRM 967 pro spolehlivé určení eGFR byla shrnuta v klíčové práci [3]. Od ní lze datovat začátek procesu standardizace kreatininu v séru pro potřebu správného stanovení hodnot eGFR. Nalezneme ji v časopise Clinical Chemistry a také na webových stránkách www.nkdep.nih.gov. [4]. Základním poznatkem bylo potvrzení existence významné pozitivní hodnoty bias (až 35 %) u Jaffého metody do koncentrací 130-140 $\mu\text{mol/l}$, silně zkreslující hodnoty eGFR - významně zvyšující počet jejich falešně pozitivních výsledků. Z práce vyplynula nutnost recalibrovat rutinní metody na již výše uvedenou referenci. Další reakcí (evropských autorů) byly návrhy jednoznačně preferovat enzymatické metody stanovení, které jsou dostatečně analyticky specifické a nevykazují již po recalibraci na uvedenou referenci žádný významný bias [5]. Údaje o nespecifičnosti a pozitivním bias u Jaffého metod a diagnostik různých výrobců byly dva roky po navržené standardizaci jasně potvrzeny validačními experimenty pracovní skupiny EFLM [6]. V té době byla většina Jaffého metod k spolehlivému stanovení eGFR ještě nezpůsobila.

Patrně z finančních důvodů nedošlo k předpokládanému obecnému nahrazení Jaffého reakce enzymatickou metodou, ale její návaznost na referenční metodu/certifikovaný referenční materiál musela být dodatečně zajištěna kompenzací jejich výsledků odečtením před-

pokládané hodnoty nespecifických chromogenů. Odčítané hodnoty se pohybují v intervalu cca 18-27 $\mu\text{mol/l}$ u diagnostik různých výrobců. Tímto způsobem bylo možné snížit hodnotu bias na přijatelných -6 až 7 % jak u enzymatické, tak i u Jaffého metody [7]. Celý problém standardizace a kompenzace Jaffého metody je popsán česky [8] v bulletinu Fons a v Infoservisu SEKK. Tam je uveden pozitivní důsledek kompenzace (jakkoliv technicky kontroverzně provedené) na hodnoty eGFR a na úspěšnost v programu EHK. Také je tam upozorněno na možnost, že na rozdíl od několika globalizovaných diagnostických gigantů (Roche, Abbott, Siemens, Beckman, Vitros), kde byla kompenzace verifikována, řada menších výrobců diagnostik nemusí mít kompenzaci korektně nebo také vůbec provedenou. Přitom ve srovnání se světem jsou taková diagnostika používaná atypicky ve více, než v 50 % českých laboratořích. Následně se může stanovení eGFR v takových případech stát velmi nespolehlivým. Systematická chyba při stanovení sérového kreatininu vede k zhruba dvojnásobně vyšší systematické chybě stanovení eGFR [9]. Problém kompenzace Jaffého metody u menších výrobců si laboratoře musí vyjasnit s výrobcí, protože koneckonců jsou ony nositeli odpovědnosti za výsledky. Zde se nabízí otázka, zda není používání výrobků menších firem v některých případech svým způsobem riskantní a zda mají laboratoře vždy od dodavatelů dostatečné množství přístupných informací o problémech.

Poslední publikované stanovisko evropské pracovní skupiny pro kreatinin (pracovní skupiny EFLM) k jeho standardizaci [10] shrnuje výše uvedené poznatky a zdůrazňuje preference enzymatické metody před metodou Jaffé. Americká stanoviska se spíše snaží o posuzování enzymatické metody a Jaffého metod s kompenzací jako více méně rovnocenných, jak bylo již naznačeno v studii Greenberga a spol. Na webových stránkách NKDEP [4] jsou v oddíle „Laboratory evaluation“ uvedena data studie „komutability reagencí a přístrojů“. To je neseriózní, uvážíme-li, že komutabilita je vlastnost referenčních materiálů a nesouvisí s vlastnostmi metod nebo dokonce přístrojů, takže ve skutečnosti je to studie o tom, co neexistuje. Vystupují v ní navíc pouze firmy globálních výrobců, což vzbuzuje pochybnosti nejen o umění aplikovat metrologii, ale i o objektivitě takového přístupu.

V případě kreatininu nemůže být však o nedostatečné analytické specifičnosti Jaffého metody rozumných pochyb. Je také vhodné se zmínit, že u dětské populace je stanovení eGFR s použitím Jaffého reakce (i po kompenzaci) naprosto nevhodné a mělo by být důsledně nahrazeno enzymatickou metodou [11].

Standardizace měření cystatinu C v roce vydání výše zmíněného českého doporučení byla pouze rozpracovaná, ale certifikované referenční materiály, které by ji umožnily realizovat, nebyly dosud přístupné. V roce 2010 byly konečně uveřejněny informace o existující-

cím, produkovaném a výrobci dostupným materiálu ERM-DA 471/IFCC [12] a v následujícím roce se standardizované metody - kity začaly objevovat na trhu. Sjednocení kalibrace všech metod stanovení cystatinu C by značně zlepšilo situaci ve srovnatelnosti a klinickém významu eGFR, počítaného z cystatinu C. Nicméně, jak se již stává nevhodnou tradicí a jak je dáno neotřesitelným postavením nadnárodních výrobců, přístup k praktickému zavedení standardizace je pomalý, daný spíše zájmy firem, než potřebou medicíny a pacientů. Z kontrolních cyklů SEKK v roce 2012 je zřejmé, že standardizace podle ERM-DA471/IFCC je používána jen v 28-38 % českých laboratořích.

Je nutné vydávat k výsledkům stanovení kreatininu a cystatinu C i odpovídající výsledky eGFR? V současnosti je obvyklé, doporučované a někde i vyžadované automatické provedení výpočtu eGFR při každém měření koncentrací kreatininu a cystatinu C (s výjimkami jmenovitých situací, kdy takový postup nemá žádný klinický smysl nebo přínos). Informace o výhodách, přínosech, případně nejasnostech takového postupu lze nalézt v řadě studií [13, 14, 15]. Závěry studií ukazují užitečnost takového přístupu zejména u nefrologických, diabetických a hypertenzních pacientů. Stav informačních technologií v laboratořích navíc umožňuje snadnou realizaci výpočtu eGFR. Důvody pro rutinní, automaticky prováděné zavedení výpočtu eGFR, se zdají být nezpochybnitelné.

V současném doporučení České nefrologické společnosti a ČSKB je za metodu volby pro výpočet eGFR považována rovnice MDRD. Tato rovnice má akceptovatelnou přesnost pouze do hodnoty 1 ml/s/1,73 m² a i jinak je její významnost omezena řadou faktorů, v doporučení i jiné literatuře uvedených. Od roku 2009 se prosazuje vedle metody MDRD také výpočet eGFR z kreatininu podle rovnice CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Cooperation Equation). Výpočet CKD-EPI pracuje se stejnými veličinami jako výpočet MDRD. Vzorce jsou k nalezení na www.nkdep.nih.gov a na webových kalkulátorech (například na www.naskl.cz). Od roku 2009 bylo věnováno v databázi Medline rovnici CKD-EPI na tři sta odkazů. Většina studií přisuzuje této rovnici lepší vlastnosti, než vztahu MDRD [16, 17].

Ke stanovení hodnoty eGFR na bázi cystatinu C je zapotřebí mít k dispozici výsledky měření důsledně návazné na referenční materiál ERM DA 471/IFCC. Nutnosti dokončení této standardizace se v současnosti dovolávají nejen kliničtí chemikové, ale i špičkoví experti nefrologie. Hodnoty eGFR stanovené z cystatinu C hrají velkou roli zejména v pediatrické nefrologii [18]. Velká pozornost se věnuje v poslední době významu a možnostem paralelního stanovení eGFR jak z kreatininu, tak z cystatinu C [12, 17, 19, 20]. Tento přístup je považován za velmi perspektivní, schopný přesnějšího diagnostického postupu, lepší klasifikace choroby a predikce jejího vývoje.

Stanovení eGFR je nezbytné ke spolehlivé diagnostice chronických renálních poškození. Důsledná standardizace měření kreatininu a cystatinu C je nezbytně nutná. V českých podmínkách to u kreatininu znamená použí-

vat důsledně buď enzymatické, nebo aspoň kompenzované Jaffého metody. Pro výrobce diagnostik to zase znamená rychlé zavedení kalibrace návazné na ERM DA471/IFCC. Vzhledem k četnosti renálních poškození, k počtu diabetiků a vůbec k celkové závažnosti je problém eGFR jedním z mnohých, kde by lékaři klinických laboratořích mohli nalézt jak vyšší prospěch pro pacienty, ale i příležitost k odborné seberealizaci. Například úprava stávajícího doporučení o eGFR [1] by mohla být hned takovou příležitostí. Ze zamýšlení nad problémem a jeho reflexí v literatuře plyne již dlouho známý, ale málo realizovaný fakt o nutnosti úzké spolupráce laboratořích a kliniků. Samotný proces standardizace kreatininu byl vyvolán nefrology. Dalším poznatkem je, že plnohodnotné využití laboratorních výsledků potřebuje, aby klinické chápali a přijali základy koncepce návaznosti a harmonizace laboratorních výsledků, minimálně z důvodů úspěšné komunikace mezi poskytovateli a uživateli. Doufejme, že práce T. Šálka a spoluautorů na téma eGFR není v tomto časopise poslední.

Literatura

1. **Zima T., Teplan V., Tesař V. a spol.** Doporučení České nefrologické společnosti a České společnosti klinické biochemie ČLS JEP k vyšetřování glomerulární filtrace. *Klin. Biochem. Metab.* 2009, 2: 110-117.
2. **Greg Miller W., Myers G. L., Ashwood E. R. et al.** Creatinine measurement. State of art in accuracy and interlaboratory harmonization. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2005, 129: 297-304.
3. **Myers G. L., Greg Miller W., Coresh J. et al.** Recommendations for improving serum creatinine measurement: A report from the laboratory working group of the National Kidney Disease Education Program. *Clin. Chem.* 2006, 52: 5-18.
4. <http://www.nkdep.nih.gov> Part Laboratory evaluation.
5. **Panteghini M.** Enzymatic assays for creatinine: time for action. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2008, 46: 567-572.
6. **Delanghe J. R., Cobbaert C., Gailteau M. M. et al.** Trueness verification of actual creatinine assays in the European market demonstrates a disappointing variability that needs substantial improvement. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2008, 46: 1319-1325.
7. **Greenberg N., Roberts W. L., Bachmann L. M. et al.** Specificity characteristics of 7 commercial creatinine measurement procedures by enzymatic and Jaffe method principed. *Clin. Chem.* 2012, 58: 391-401.
8. **Friedecký B., Holečková M.** Kompenzace Jaffého metody stanovení kreatininu. *FONS 2/2012*, www.sekk.cz (Infoservis)
9. **Klee G. G., Schryver P. G., Saenger A. K., Larson B.** Effects of analytic variations in creatinine measurements on the classification of renal disease using estimated glomerular filtration rate. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2007, 45: 737-741.
10. **Delanghe J. R., Cobbaert C., Harmoinen A. et al.** Focusing on the clinical impact of standardization of creatinine measurements: a report by the EFCC Working Group on Creatinine Standardization. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2011, 49: 977-982.
11. **Cobbaert C., Baadenhuijsen H., Weykamp C.** Prime time for enzymatic creatinine measurement in pediatrics. *Clin. Chem.* 2009, 55: 549-558.

12. **Grubb A., Nyman V., Bjoerk J.** Improved estimation of glomerular filtration rate(GFR) by comparison of a GFR cystatin C and eGFR creatinine. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2012, 72: 73-77.
13. **Hemmelgram B. M., Zhang J., Manas B. J. et al.** Nephrology visits and health care resource use before and after reporting estimated glomerular filtration rate. *JAMA* 2010, 304: 1151-1158.
14. **Hostetter T., Levey A. S., Stevens L. A.** Clinical impact of reporting estimated glomerular filtration rates. *Clin. Chem.* 2010,56:1381-1383.
15. **Rollins G.** Assessing of impact of reporting eGFR. *Clinical Laboratory News*, October 2010 (www.aacc.org).
16. **Matsushita K., Mahnoodi B. K., Woodward H. et al.** Comparison risk prediction using the CKD-EPI equation and the MDRD study equation for estimated glomerular filtration rate. *JAMA* 2012; 307: 1941-1951.
17. **Earley A., Miskulin P., Loeb E. J. et al.** Estimating equations for glomerular filtration rate in the era of creatinine standardization-a systematic review. *Ann. Intern. Med.* 2012, 157: 785-795.
18. **Filler G., Huang S. H. S., Yasin A.** The usefulness of cystatin C and related formulae in pediatrics. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2012, 50: 2081-2091.
19. **Inker L. A., Schmid C. M., Tighouart M. et al.** Estimating glomerular filtration rate for serum creatinine and cystatin C. *N. Engl. J. Med.* 2012, 367: 20-29.
20. **Malone B.** Defining the role of Cystatin C in Estimating GFR. New combined cystatin C-creatinine equation more accurate. *Clinical Laboratory Strategies*, August 2012. Available on www.aacc-org.

RNDr. Bedřich Friedecký, Ph.D.
SEKK s. r. o., Pardubice

Buněčnost likvoru, energetické poměry v likvorovém kompartmentu a intenzita zánětlivé odpovědi v centrálním nervovém systému

Kelbich P.^{1,2,3,4}, Hejčl A.^{5,6,12,13}, Procházka J.⁷, Selke Krulichová I.⁸, Peruthová J.^{1,4,9}, Hanuljaková E.^{2,4,10}, Špička J.¹¹

¹Oddělení klinické biochemie, hematologie a imunologie Nemocnice Kadaň s.r.o.

²Oddělení klinické biochemie, Krajská zdravotní, a.s. - Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.

³Ústav klinické imunologie a alergologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze

⁴Laboratoř pro likvorologii a neuroimunologii - Topelex s.r.o., Praha

⁵Neurochirurgická klinika Univerzity J. E. Purkyně, Krajská zdravotní, a. s. - Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.

⁶Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Brno

⁷Oddělení intenzivní medicíny, Krajská zdravotní, a.s. - Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.

⁸Ústav lékařské biofyziky, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze

⁹Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice

¹⁰Oddělení klinické biochemie, Krajská zdravotní, a.s. - Nemocnice Most, o.z.

¹¹Ústav laboratorní diagnostiky, Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Praha

¹²Ústav experimentální medicíny Akademie věd České republiky, v.v.i., Praha

¹³Neurochirurgická klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Ústřední vojenské nemocnice v Praze

SOUHRN

Cíle studie: 1. Zhodnocení buněčnosti likvoru (CSF, z angl. cerebrospinal fluid = mozkomíšni mok), koncentrací glukózy v CSF, hodnot glukózového kvocientu ($Q_{glu.}$), koncentrací laktátu v CSF a hodnot koeficientu energetické bilance (KEB) coby ukazatelů intenzity zánětlivého procesu v centrálním nervovém systému (CNS) ve skupinách pacientů bez postižení CNS, pacientů s mírnými serózními záněty CNS neinfekční etiologie, pacientů se serózními záněty CNS infekční etiologie a pacientů s purulentními záněty CNS s extracelulárními bakteriemi v patogenezi.

2. Porovnání informačního potenciálu parametrů energetického metabolismu glukózy v likvorovém kompartmentu v souboru vyšetřených pacientů, tzn. koncentrací glukózy v CSF, hodnot $Q_{glu.}$, koncentrací laktátu v CSF a hodnot KEB.

Typ studie: Retrospektivní studie.

Materiál a metody: Vyšetřili jsme 133 vzorků CSF pacientů bez postižení CNS, 227 vzorků CSF pacientů s mírnými serózními záněty CNS s intrathekální syntézou imunoglobulinů neinfekční etiologie, 208 vzorků CSF pacientů se serózními záněty CNS infekční příčiny a 140 vzorků CSF pacientů s purulentními záněty CNS s extracelulárními bakteriemi v patogenezi. Oblastí našeho zájmu byly buněčnost CSF, koncentrace glukózy v CSF, hodnoty $Q_{glu.}$, koncentrace laktátu v CSF a hodnoty KEB. Pro statistické hodnocení vybraných parametrů jsme použili D'Agostinův omnibus test, Kruskalův-Wallisův test s následnou post hoc analýzou Dunnovou metodou, Spearmanův korelační koeficient a multinomiální logistickou regresní analýzu.

Výsledky: V likvorovém kompartmentu pacientů bez postižení CNS jsme nezjistili žádné změny na úrovni buněčnosti CSF ani změny energetické. V likvorovém kompartmentu pacientů s mírnými serózními záněty CNS neinfekční etiologie byly pouze v některých případech patrné zvýšené buněčnosti CSF a jisté odchylky hodnot $Q_{glu.}$, koncentrací laktátu v CSF a hodnot KEB od normálu. V likvorovém kompartmentu pacientů se serózními záněty CNS infekční etiologie byly pozorovány projevy nápadně zvýšené intenzity zánětlivého procesu v likvorovém kompartmentu především na úrovni buněčnosti CSF, koncentrací laktátu v CSF a hodnot KEB. Vysoká intenzita purulentního zánětlivého procesu bakteriální etiologie v CNS se výrazně projevila na úrovni všech sledovaných parametrů. Nejtěsnější vztah jsme v našem souboru pacientů zjistili mezi buněčností CSF a hodnotami KEB ($p = -0,770$), následoval vztah mezi buněčností CSF a koncentracemi laktátu v CSF ($p = 0,734$), hodnotami $Q_{glu.}$ ($p = -0,676$) a koncentracemi glukózy v CSF ($p = -0,544$). Využitelnost uvedených parametrů k predikci intenzity zánětlivého procesu v CNS jsme ověřili pomocí multinomiální logistické regresní analýzy. Nejvyšší predikční potenciál měly buněčnost CSF se 71,9 % a KEB se 71,6 % správně zařazených pacientů. Následovaly koncentrace laktátu v CSF s 64,7 %, $Q_{glu.}$ s 58,8 % a koncentrace glukózy v CSF s 54,7 % správně klasifikovaných pacientů.

Závěr: Získané výsledky podpořily vhodnost využití úrovní buněčnosti CSF, koncentrací glukózy v CSF, hodnot $Q_{glu.}$, koncentrací laktátu v CSF a hodnot KEB k diagnostice postižení a monitorování intenzity zánětů v CNS. Navíc umožnily vytvořit pořadí energetických parametrů v likvorovém kompartmentu pacientů našeho souboru podle úrovně jejich informačního potenciálu. Nejpříznivějších výsledků pro hodnocení intenzity zánětlivého procesu v CNS tak bylo dosaženo v případě hodnot KEB, následovaly je koncentrace laktátu v CSF a hodnoty $Q_{glu.}$ a nejméně příznivých výsledků jsme dosáhli v případě koncentrací glukózy v CSF.

Klíčová slova: buněčnost CSF, energetické poměry v likvorovém kompartmentu, intenzita zánětu v CNS

SUMMARY

Kelbich P., Hejčí A., Procházka J., Selke Krulichová I., Peruthová J., Hanuljaková E., Špička J.: Number of cells in the cerebrospinal fluid, energy relations in the cerebrospinal fluid compartment and intensity of inflammatory response in the central nervous system

Objective: 1. Evaluate the numbers of cells in the cerebrospinal fluid (CSF), glucose concentrations in the CSF, values of the glucose quotient (Q_{glu}), lactate concentrations in the CSF and values of the coefficient of energy balance (KEB) as indicators of intensity of the inflammatory process in the CSF in groups of patients without CNS impairment, with slight serous inflammation of non-infectious aetiology in the CNS, with serous inflammation of infectious aetiology in the CNS and of patients with purulent inflammation in the CNS with extracellular bacteria in pathogenesis.

2. Compare the information potential of the used parameters of the glucose energy metabolism in the CSF compartments in our group of the investigated patients, i.e. concentrations of glucose in the CSF, values of the Q_{glu} , concentrations of lactate in the CSF and values of the KEB.

Design: Retrospective study.

Material and Methods: We examined 133 CSF specimens in patients without CNS impairment, 227 CSF specimens in patients with slight serous inflammation with intrathecal synthesis of immunoglobulins of non-infectious aetiology in the CNS, 208 CSF specimens in patients with serous inflammation of infectious aetiology in the CNS and 140 CSF specimens in patients with purulent inflammation in the CNS with extracellular bacteria in pathogenesis. The objects of our interest were numbers of cells in the CSF, concentrations of glucose in the CSF, values of the Q_{glu} , concentrations of lactate in the CSF and values of the KEB. The D'Agostino Omnibus test, the Kruskal-Wallis test with follow-up post hoc analysis using the Dunn's method, the Spearman correlation coefficient and the multinomial logistic regression analysis were used for statistical analysis of the examined parameters.

Results: We did not find any changes in the numbers of cells in the CSF and in energy ratios in the CSF compartment of patients without CNS impairment. We found raised numbers of cells in the CSF and slight alterations of the glucose quotients, lactate concentrations in the CSF and the values of the KEB only in some patients with slight serous inflammations of non-infectious aetiology in the CNS. We observed manifestations of conspicuously increased intensity of inflammation in the numbers of cells in the CSF, lactate concentrations in the CSF and the values of the KEB in patients with serous inflammations of infectious aetiology in the CNS. Very high intensity of purulent inflammation in the CNS of bacterial aetiology was well apparent in all the evaluated parameters. Concerning the relationship, either direct or indirect, between the number of cells in the CSF and the other parameters, we found the highest correlation between the number of cells in the CSF and the values of the KEB ($\rho = -0.770$), followed by the lactate concentrations in the CSF ($\rho = 0.734$), the Q_{glu} ($\rho = -0.676$) and the glucose concentrations in the CSF ($\rho = -0.544$). We verified the applicability of the parameters mentioned above for prediction of the intensity of inflammation in the CNS via multinomial logistic regression analysis. The number of cells and the KEB, with 71.9% and 71.6% respectively, has the highest prediction potential of the correctly classified patients. They were followed by the lactate concentration in the CSF with 64.7%, the Q_{glu} with 58.8% and the glucose concentration with 54.7% of the correctly classified patients.

Conclusion: Our study supports the applicability of the numbers of cells in the CSF, the glucose concentrations in the CSF, the values of the Q_{glu} , the lactate concentrations in the CSF and the values of the KEB for diagnosing CSF impairment and for monitoring the intensity of inflammation in the CNS. Further, the results enabled determination of the information potential of the energy parameters. The values of the KEB were most suitable for evaluation of the intensity of inflammation in the CNS. Less suitable results were achieved in case of the lactate concentrations in the CSF. Even worse results were observed in case of the values of Q_{glu} and the least suitable results were observed in case of the glucose concentrations in the CSF.

Key words: number of cells in the CSF, energy relations in the CSF compartment, intensity of the inflammatory response in the CNS

Úvod

Intenzita zánětlivého procesu v CNS

Určení charakteru zánětlivého procesu v likvorovém kompartmentu má zpravidla zásadní význam pro odhalení příčiny postižení centrálního nervového systému (CNS). Důležitá je znalost imunokompetentních buněk coby nositelů zánětlivé reakce v CNS a rozsah anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu. Ten je výsledkem jejich aktivity a tedy intenzity imunitní zánětlivé odpovědi [1-3, 16, 18, 20]. Lze předpokládat, že robustnějšímu a odolnějšímu faktoru odpovídá imunitní systém s větší intenzitou, což zvyšuje riziko poškození tkáně v oblasti zánětlivého procesu [4, 8]. Jak ale působení škodlivého faktoru slábne, tak se snižuje intenzita imunitní odpovědi. Z toho vyplývá, že znalost intenzity zánětu může mít význam pro diagnostiku postižení CNS a pro monitorování,

případně predikci jeho dalšího vývoje [8, 9, 19, 21]. Otázkou tedy je, jak intenzitu imunitní zánětlivé reakce kvantifikovat.

Kvantifikací intenzity zánětlivého procesu v CNS může být buněčnost likvoru (CSF, z angl. cerebrospinal fluid = mozkomíšní mok), vyjadřovaná jako počet leukocytů v určitém objemu CSF (1 nebo 3 μ l) [1, 3]. Vychází z představy, že počtu buněk účastnících se imunitní reakce odpovídá velikost jejich společného účinku [8, 9]. Jistým omezením ale může být nerovnoměrné rozptýlení hodnocených buněk v CSF a rozdíl mezi počtem a složením buněk v epicentru patologického procesu (např. v mozковém parenchymu nebo na meningách) a v oblasti odběru vzorku CSF pro laboratorní vyšetření (zejména lumbální oblast). Imunokompetentní buňky se kumulují v postižené tkáni [12, 14]. Část jich je занесена do oblasti odběru CSF. Lze předpokládat, že platí přímá úměra mezi množstvím buněk v epicentru pa-

tologického procesu v CNS a jejich počtem ve vzorku CSF. I do této úvahy se ale může negativně promítnout například porucha cirkulace CSF [13].

Další možností kvantifikace intenzity zánětlivého procesu v CNS je vyšetřování energetických poměrů v likvorovém kompartmentu. To spočívá v hodnocení spotřeby energetického substrátu, čili glukózy, v CSF nebo v hodnocení koncentrace produktu anaerobního metabolismu, čili laktátu, v CSF nebo v hodnocení produkce adenosintrifosfátu (ATP) v likvorovém kompartmentu s využitím koeficientu energetické bilance (KEB) [5, 10, 11, 16, 17, 22]. KEB tedy respektuje situaci na vstupu (koncentrace glukózy v CSF) i na anaerobním konci (koncentrace laktátu v CSF) energetického metabolismu v likvorovém kompartmentu [15].

$$KEB = 38 - 18 * \frac{[laktát_{CSF}]}{[glukóza_{CSF}]}$$

Dvě cesty vzniku CSF

Za fyziologických podmínek vzniká cca 60 až 75 % CSF v choroidálním plexu komorového systému mozku ultrafiltrací krevní plazmy [26, 28]. Lze předpokládat, že touto cestou se do likvorového kompartmentu dostávají regulované složky imunitního systému, humorální i buněčné. Tato část CSF obsahuje též podstatnou část glukózy pro výživu imunokompetentních buněk.

Druhá cesta vzniku CSF spočívá v řízené látkové výměně mezi krví a buňkami mozкового parenchymu na endotelu mozkových kapilár (tzv. hematoencefalická bariéra). Součástí tohoto procesu je produkce extracelulární tekutiny mozku. Extracelulární tekutina vytváří prostředí pro buňky CNS a odvádí produkty jejich metabolismu [6, 7, 23 - 25, 27, 28]. Po přestupu přes stěny komorového systému mozku pak doplňuje zbývajících 25 až 40 % do celkového objemu CSF [26].

Dodávka glukózy z krevní plazmy v choroidálním plexu a příspěvek laktátu z extracelulární tekutiny mozku se tak podílejí na normálním složení CSF. Zánětlivé procesy v CNS či v likvorovém kompartmentu mohou být příčinou odchylek od dynamicky rovnovážného stavu. Na hodnocení těchto změn je pak založeno diagnostické využití vývoje energetických poměrů v likvorovém kompartmentu [8, 15-18].

Cíle studie

Prvním cílem studie je zhodnotit úroveň buněčnosti CSF, koncentrací glukózy v CSF, hodnot glukózového kvocientu ($Q_{glu.}$), koncentrací laktátu v CSF a hodnot KEB coby ukazatelů intenzity zánětlivého procesu v CNS ve skupinách pacientů bez postižení CNS (K), pacientů s mírnými serózními záněty CNS neinfekční etiologie (MZ), pacientů se serózními záněty CNS infekční příčiny (S) a pacientů s purulentními záněty CNS s extracelulárními bakteriemi v patogenezi (P).

Druhým cílem studie je porovnání informačního potenciálu používaných parametrů energetického metabolismu glukózy v likvorovém kompartmentu v našem souboru vyšetřených pacientů, tzn. koncentrací glukózy v CSF, glukózového kvocientu ($Q_{glu.}$), koncentrací laktátu v CSF a hodnot KEB.

Materiál a metody

Pro naši studii jsme použili výsledky vyšetření 708 vzorků CSF pacientů rozdělených do 4 skupin. První skupinu tvoří 133 pacientů bez prokázaného postižení CNS (kontrolní skupina = K), druhou skupinu tvoří 227 pacientů s mírnými serózními záněty CNS s intrathekální syntézou imunoglobulinů neinfekční etiologie (mírné záněty = MZ), třetí skupinu tvoří 208 pacientů se serózními záněty CNS infekční příčiny (serózní záněty = S) a čtvrtou skupinu tvoří 140 pacientů s purulentními záněty CNS zapříčiněnými extracelulárními bakteriemi (purulentní záněty = P).

Pouze v 653 případech bylo spolu se vzorkem CSF provedeno paralelní vyšetření krve. Proto jsme při hodnocení $Q_{glu.}$ vycházeli z menšího počtu údajů (K = 131 pacientů; MZ = 223 pacientů; S = 181 pacientů a P = 118 pacientů).

U všech pacientů bylo provedeno vyšetření buněčnosti CSF (počtu leukocytů v CSF) ve Fuchsově-Rosenthalově komůrce, stanovení koncentrací glukózy v CSF a v krvi enzymatickými metodami s hexokinázou a glukózooxidázou a peroxidázou, stanovení koncentrací laktátu v CSF enzymatickou metodou s laktát-oxidázou a peroxidázou, výpočet hodnot $Q_{glu.}$ představujících poměr koncentrací glukózy v CSF a v krvi a výpočet hodnot KEB představujících průměrný počet molekul adenosintrifosfátu (ATP) vyprodukovaných za aktuálních energetických poměrů v likvorovém kompartmentu z jedné molekuly glukózy (viz výše).

Testování normality rozložení souborů hodnot příslušných parametrů ve všech skupinách pacientů bylo provedeno D'Agostinovým omnibus testem. Výsledky testu ukázaly, že krom koncentrací laktátu ve skupině pacientů bez postižení CNS (K) nemůžeme předpokládat normální rozložení hodnot. Proto jsme pro porovnání skupin pacientů použili Kruskalův-Wallisův test s následnou post hoc analýzou Dunnovou metodou a pro hodnocení korelací mezi buněčností CSF a parametry energetického metabolismu v likvorovém kompartmentu Spearmanův korelační koeficient. Využitelnost uvedených parametrů k predikci intenzity zánětlivého procesu v CNS jsme ověřili pomocí multinomiální logistické regresní analýzy.

Výsledky a diskuze

Buněčnost CSF

Počet imunokompetentních buněk v CSF pacientů bez postižení CNS (K) je ve všech případech nízký (Tabulka 1 a 2) a odpovídá potřebě zajištění nezbytného imunitního dozoru v likvorovém kompartmentu.

Počet imunokompetentních buněk v CSF pacientů s mírnými záněty neinfekční etiologie v CNS (MZ) je oproti skupině pacientů bez postižení CNS (K) statisticky významně zvýšený (Tabulka 1). V 53,3 % je buněčnost CSF normální, v 46,7 % pak mírně až výrazněji zvýšená (Tabulka 2). V této skupině pacientů lze tedy pozorovat tendenci ke zvýšené přítomnosti imunokompetentních buněk v likvorovém kompartmentu odpovídající zvýšené zánětlivé aktivitě v CNS.

Table 1: The results of the examination of CSF in 4 groups of patients

	K		MZ		S		P	
	mean (SD)	median (range)	mean (SD)	median (range)	mean (SD)	median (range)	mean (SD)	median (range)
Leukocytes in CSF [elements/3]	3.63 (2.47)	3.00a (0-10) MZ, S, P	19.52 (34.86)	10.00 b (0-325) K, S, P	800.30 (977.48)	444.50 c (2-7168) K, MZ, P	10 648.66 (15 149.01)	4 414.50 d (35-94720) K, MZ, S
Glucose in CSF [mmol.L ⁻¹]	3.54 (0.62)	3.43 a (2.78-7.07) S, P	3.51 (0.76)	3.34 a (2.30-7.51) S, P	3.23 (0.75)	3.10 b (2.00-7.71) K, MZ, P	1.07 (1.10)	0.69 c (0.01-5.30) K, MZ, S
Q _{glu.}	0.75 (0.19)	0.73 a (0.36-1.74) MZ, S, P	0.67 (0.17)	0.66 b (0.25-1.59) K, S, P	0.57 (0.13)	0.55 c (0.16-1.16) K, MZ, P	0.15 (0.13)	0.13 d (0.00-0.46) K, MZ, S
Lactate in CSF [mmol.L ⁻¹]	1.41 (0.21)	1.42 a (0.93-2.02) S, P	1.52 (0.43)	1.41 a (0.88-4.59) S, P	2.19 (0.69)	2.09 b (0.93-5.12) K, MZ, P	10.15 (5.18)	9.27 c (2.25-36.75) K, MZ, S
KEB	30.70 (1.13)	30.58 a (28.52-34.92) S, P	30.13 (1.75)	30.30 a (19.35-33.55) S, P	25.42 (4.24)	26.05 b (11.45-33.22) K, MZ, P	-3 708.04 (9 435.44)	-219.19c (-66112-5.2) K, MZ, S

Legend: K = control group of patients without CNS impairment; MZ = patients with slight serous inflammation of noninfectious etiology in the CNS; S = the patients with serous inflammation of infectious etiology in the CNS; P = patients with purulent inflammation of bacterial etiology in the CNS; SD = standard deviation; medians sharing a common superscript are not significantly different by Dunn's test ($p > 0.05$)

Table 2: Summary of normal and altered values of numbers of leukocytes and energetic parameters in the CSF in the 4 groups of examined patients

Number of specimens (frequency)	K		MZ		S		P	
	normal values	outside the normal values	normal values	outside the normal values	normal values	outside the normal values	normal values	outside the normal values
Leukocytes in CSF [elements/3] (n.v. < 10)	133 (100.0%)	0 (0.0%)	121 (53.3%)	106 (46.7%)	5 (2.4%)	203 (97.6%)	0 (0.0%)	140 (100.0%)
Glucose in CSF [mmol.L ⁻¹] (n. v. > 2.20)	133 (100.0%)	0 (0.0%)	227 (100.0%)	0 (0.0%)	205 (98.6%)	3 (1.4%)	22 (15.7%)	118 (84.3%)
Q _{glu.} (n. v. > 0.55)	119 (90.8%)	12 (9.2%)	188 (84.3%)	35 (15.7%)	92 (50.8%)	89 (49.2%)	0 (0.0%)	118 (100.0%)
Lactate in CSF [mmol.L ⁻¹] (n. v. < 2.10)	133 (100.0%)	0 (0.0%)	205 (90.3%)	22 (9.7%)	108 (51.9%)	100 (48.1%)	0 (0.0%)	140 (100.0%)
KEB (n. v. > 28.00)	133 (100.0%)	0 (0.0%)	210 (92.5%)	17 (7.5%)	58 (27.9%)	150 (72.1%)	0 (0.0%)	140 (100.0%)

Legend: K = control group of patients without CNS impairment; MZ = patients with slight serous inflammation of noninfectious etiology in the CNS; S = the patients with serous inflammation of infectious etiology in the CNS; P = patients with purulent inflammation of bacterial etiology in the CNS; n. v. = normal values

Vysoké zánětlivé aktivitě v likvorovém kompartmentu pacientů se serózním zánětlivým postižením CNS infekční etiologie (S) odpovídá nápadně zvýšená buněčnost CSF, v porovnání s předchozími skupinami pacientů (K a MZ), na úrovni statisticky významné (Tabulka 1). Ale i v této skupině pacientů jsme našli několik případů (2,4 %) s normálním počtem leukocytů v CSF (Tabulka 2).

Purulentní zánětlivý proces v CNS se vyznačuje velmi vysokou intenzitou. Tomu odpovídá též vysoká účast imunokompetentních buněk. V porovnání se skupinami pacientů bez postižení CNS (K), s mírnými serózními záněty CNS (MZ) a se serózními záněty CNS

(S) je tedy dle očekávání rozdíl buněčností CSF statisticky významný (Tabulka 1).

Koncentrace glukózy v CSF

Ve skupinách pacientů bez postižení CNS (K) a s mírnými serózními záněty neinfekční etiologie v CNS (MZ) jsme v žádném případě nezjistili sníženou koncentraci glukózy v CSF (Tabulka 1 a 2).

Mírně zvýšený úbytek glukózy v CSF jsme zaznamenali až u některých pacientů se serózním zánětem CNS infekční etiologie (S) (Tabulka 1 a 2).

Nápadným úbytkem glukózy v CSF se pak projevuje zejména vysoká intenzita purulentního zánětlivého

procesu v CNS, což je patrné ze statisticky významných rozdílů koncentrací glukózy mezi skupinou pacientů s purulentními záněty CNS (P) a ostatními skupinami pacientů (K, MZ a S) (Tabulka 1). Přesto jsme ale v 15,7 % případů pacientů s purulentními záněty CNS (P) zjistili normální nebo dokonce zvýšené koncentrace glukózy v CSF (Tabulka 2). Hlavní příčinou tohoto jevu byla zvýšená nabídka glukózy z krve.

Glukózový kvocient (Q_{glu})

Mezi úrovněmi hodnot Q_{glu} ve všech sledovaných skupinách pacientů jsme našli statisticky významné rozdíly. Nejvyšší hodnoty Q_{glu} jsou patrné ve skupině pacientů bez postižení CNS (K), dále se mírně snižují ve skupině pacientů s mírnými neinfekčními serózními záněty CNS (MZ), ve skupině pacientů se serózními záněty CNS infekční etiologie (S) a výrazně ve skupině pacientů s purulentními záněty CNS bakteriální příčiny (P) (Tabulka 1).

V porovnání s normálními hodnotami Q_{glu} jsme ve skupině pacientů bez postižení CNS (K) našli 9,2 % případů se sníženými hodnotami tohoto parametru, ve skupině pacientů s mírnými serózními záněty neinfekční etiologie v CNS (MZ) jsme našli 15,7 % případů se sníženými hodnotami tohoto parametru a ve skupině pacientů se serózními záněty infekční etiologie v CNS (S) jsme našli 49,2 % případů se sníženými hodnotami tohoto parametru (Tabulka 2).

Především přítomnost snížených hodnot Q_{glu} u 9,2 % pacientů bez postižení CNS (K) poukazuje na možná úskalí praktického používání tohoto parametru. Klíčovým problémem je preanalytická fáze začínající odběrem CSF a krve pacienta. Správný postup, kdy je nejdříve odebrána krev a následně CSF až po dorovnání hladin glukózy (cca po 20 minutách), nebývá často dodržován. To pak vede k falešným odchylkám úrovní tohoto parametru od hodnot normálních, jak je patrné u celé řady pacientů našeho souboru.

Dalším problémem bývá správný odběr krve pro následné vyšetření koncentrací glukózy a rychlá doprava vzorku k laboratornímu zpracování. Chybný postup v této fázi má většinou za následek falešně snížené koncentrace glukózy v krvi *in vitro*, a tím pádem falešný nárůst hodnot Q_{glu} . O tom, že vyšetření koncentrací glukózy v krvi v rámci prováděných vyšetření CSF leží na pokraji zájmu, svědčí 65,6 % hodnot Q_{glu} ve skupině pacientů bez postižení CNS (K) zvýšených nad rozsah hodnot normálních (0,55 až 0,65), 50,2 % případů zvýšených hodnot Q_{glu} ve skupině pacientů s mírnými serózními záněty neinfekční etiologie v CNS (MZ) a 19,3 % případů zvýšených hodnot Q_{glu} ve skupině pacientů se serózními záněty infekční etiologie v CNS (S).

Naproti tomu tento parametr eliminoval nedostatky samotného vyšetření koncentrací glukózy v CSF a ve skupině pacientů s purulentními záněty bakteriální příčiny (P) odhalil se 100,0 % účinností její úbytek (Tabulka 1 a 2).

Koncentrace laktátu v CSF

Mezi koncentracemi laktátu v CSF ve skupinách pacientů bez postižení CNS (K) a pacientů s mírnými serózními záněty CNS neinfekční etiologie (MZ) jsme

nezjistili statisticky významný rozdíl. Významné rozdíly v hodnotách tohoto parametru ale byly nalezeny ve všech ostatních případech (Tabulka 1).

Ve skupině pacientů bez postižení CNS (K) jsme našli žádný případ překročení normálních koncentrací laktátu v CSF, ve skupině pacientů s mírnými serózními záněty CNS neinfekční etiologie (MZ) jsme zjistili překročení koncentrací laktátu v 9,7 % případů a ve skupině pacientů se serózními záněty CNS infekční etiologie (S) ve 48,1 % případů. Zvýšené koncentrace laktátu v CSF pak byly zjištěny u všech pacientů s purulentními záněty bakteriální etiologie v CNS (P) (Tabulka 2). Tyto nálezy opět podporují úvahu o bezvýhradně velmi vysoké intenzitě zánětlivého procesu purulentního charakteru.

Koeficient energetické bilance (KEB)

Rovněž mezi hodnotami KEB ve skupinách pacientů bez postižení CNS (K) a pacientů s mírnými serózními záněty CNS neinfekční etiologie (MZ) není patrný statisticky významný rozdíl. Statisticky významné rozdíly v úrovních tohoto parametru byly opět nalezeny ve všech ostatních případech (Tabulka 1).

U pacientů bez postižení CNS (K) jsme v žádném případě nezjistili sníženou hodnotu KEB, ve skupině pacientů s mírnými serózními záněty CNS neinfekční příčiny (MZ) jsme zjistili 7,5 % případů snížených hodnot KEB, ve skupině pacientů se serózními záněty infekční etiologie (S) 72,1 % případů snížených hodnot KEB a ve skupině pacientů s purulentními záněty CNS bakteriální příčiny (P) 100,0 % případů výrazně snížených hodnot KEB (Tabulka 2).

Uvedené výsledky dovolují diferencovat mezi úrovněmi intenzit zánětlivé odpovědi v CNS s jejich vzestupnou tendencí počínaje pacienty bez postižení CNS (K), přes pacienty se serózními záněty CNS infekční etiologie (S) až po extrémní stavy u pacientů s purulentními záněty CNS bakteriální příčiny (P). Naproti tomu se ale malá intenzita zánětlivé odpovědi v CNS pacientů s mírnými serózními záněty CNS (MZ) výrazněji neliší od normálních energetických poměrů v CNS pacientů bez postižení CNS (K).

Vztahy mezi koncentracemi glukózy v CSF, hodnotami Q_{glu} , koncentracemi laktátu v CSF, hodnotami KEB a buněčností CSF

O tom, že mezi biochemickými parametry energetického metabolismu glukózy a buněčností CSF existuje vztah, svědčí středně silné až silné korelace zjištěné na úrovni celého souboru vyšetřených pacientů. Nejtěsnější vztah jsme v našem souboru pacientů zjistili mezi buněčností CSF a hodnotami KEB ($\rho = -0,770$), následoval vztah mezi buněčností CSF a koncentracemi laktátu v CSF ($\rho = 0,734$), hodnotami Q_{glu} ($\rho = -0,676$) a koncentracemi glukózy v CSF ($\rho = -0,544$).

Využitelnost uvedených parametrů k predikci intenzity zánětlivého procesu v CNS jsme ověřili pomocí multinomiální logistické regresní analýzy, kde nezávislou proměnnou byl příslušný parametr a závislou proměnnou skupina, k níž pacient náleží (tj. K, MZ, S a P). Nejvyšší predikční potenciál mají buněčnost CSF se 71,9 % a KEB se 71,6 % správně zařazených pacientů.

Následuje koncentrace laktátu v CSF s 64,7 %, hodnota $Q_{glu.}$ s 58,8 % a koncentrace glukózy v CSF s 54,7 % správně klasifikovaných pacientů.

Závěr

Provedli jsme hodnocení příslušných likvorových parametrů, u kterých jsme předpokládali přímý vztah k intenzitě zánětlivého procesu v CNS. Těmito parametry byly buněčnost CSF, koncentrace glukózy v CSF, hodnoty $Q_{glu.}$, koncentrace laktátu v CSF a hodnoty KEB.

V likvorovém kompartmentu pacientů bez postižení CNS (K) nebyly zjištěny žádné změny na úrovni buněčnosti CSF ani změny energetické. V likvorovém kompartmentu pacientů s mírnými serózními záněty CNS neinfekční etiologie (MZ) byly pouze v některých případech patrné zvýšené buněčnosti CSF a změny hodnot $Q_{glu.}$, koncentrací laktátu v CSF a hodnot KEB. V likvorovém kompartmentu pacientů se serózními záněty CNS infekční etiologie (S) se změny na úrovni buněčnosti CSF a energetických poměrů v likvorovém kompartmentu projevují výrazněji. Velmi vysoká intenzita purulentního zánětlivého procesu bakteriální etiologie v CNS (P), jehož podstatou je oxidační vzplanutí neutrofilních granulocytů, se v naprosté většině případů projevila extrémními alteracemi všech sledovaných parametrů.

Získané výsledky podporují vhodnost využití úrovní buněčnosti CSF, koncentrací glukózy v CSF, hodnot $Q_{glu.}$, koncentrací laktátu v CSF a hodnot KEB v diagnostice postižení a monitorování intenzity zánětlivých změn v CNS. Navíc umožnily seřadit energetické parametry v likvorovém kompartmentu pacientů podle úrovně informačního potenciálu. Nejpriznivější výsledky konstatujeme v případě úrovně buněčnosti CSF a hodnot KEB, následují je koncentrace laktátu v CSF a hodnoty $Q_{glu.}$ a nejméně příznivých výsledků bylo dosaženo v případě koncentrací glukózy v CSF.

Literatura

1. **Adam, P.** *Cytologie likvoru*, 1st ed. Pardubice, Stapro, 1995.
2. **Adam, P., Táborský, L., Sobek, O. et al.** *Cerebrospinal Fluid*. In: Spiegel, H. E., Nowacki, G., Hsiao, K. J. (eds). *Advances in Clinical Chemistry*, Vol. 36. San Diego, San Francisco, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo: Academic Press, 2001, s. 1-62.
3. **Adam, P., Táborský, L., Sobek, O., Kelbich, P.** *Cytology of Cerebrospinal Fluid*. 1st ed. Praha: Medica News Publishers, 2003, s. 3-80, ISBN 80-86284-35-2.
4. **Bartz, R. R., Piantadosi, C. A.** Clinical review: Oxygen as a signaling molekule. *Crit. Care*, 2010, 14(5), s. 234-242.
5. **Brett, M. M.** Approach to the Patient with Abnormal Cerebrospinal Fluid Glucose Content. In: Irani, D. N. *Cerebrospinal fluid in clinical practice*. Philadelphia (PA): Saunders Elsevier, 2009, s. 282-284.
6. **Hejčl, A., Bolcha, M., Procházka, J., Sameš, M.** Multimodální monitorování mozku u pacientů s těžkým kraniocerebrálním traumatem a subarachnoidálním krvácením v neurointenzivní péči. *Cesk. Slov. Neurol. N.*, 2009, 72/105(4), s. 383-387.
7. **Hejčl, A., Bolcha, M., Procházka, J., Hušková, E., Sameš, M.** Elevated Intracranial Pressure, and Impaired Brain Metabolism Correlate with Fatal Outcome After Severe Brain Injury. *Cen. Eur. Neurosurg.*, 2011, 72, s. 1-6.
8. **Hoffman, O., Weber, R. J.** Pathophysiology and Treatment of Bacterial Meningitis. *Ther Adv Neurol Disord.*, 2009, 2(6), s. 1-7.
9. **Hořejší, V., Bartůňková, J.** *Základy imunologie*. 4th ed. Praha: Triton, 2009. ISBN 978-80-7387-280-9.
10. **Huy, N. T., Thao, N. T. H., Diep, D. T. N., Kikuchi, M., Zamora, J., Hirayama, K.** Cerebrospinal fluid lactate concentration to distinguish bacterial from aseptic meningitis: a systemic review and meta-analysis. *Crit. Care*, 2010, 14(6), R240.
11. **Chehtane, M., Khaled, A. R.** Interleukin-7 mediates glucose utilization in lymphocytes through transcriptional regulation of the hexokinase II gene. *Am. J Physiol. Cell Physiol.*, 2010, 298(6), C1560-C1571.
12. **Chodobski, A., Zink, B. J., Szmydynger-Chodobska, J.** Blood-brain barrier pathophysiology in traumatic brain injury. *Transl. Stroke Res.*, 2011, 2(4), s. 492-516.
13. **Johanson, C. E., Duncan III, J. A., Klinge, P. M., Brinker, T., Stopa, E. G., Silverberg, G. D.** Multiplicity of cerebrospinal fluid functions: New challenges in health and disease. *Cerebrospinal Fluid Res.*, 2008, 5, s. 10.
14. **Kamen, L. A., Schlessinger, J., Lowell, C. A.** Pyk2 is required for neutrophil degranulation and host defense responses to bacterial infection. *J Immunol.*, 2011, 186(3), s. 1656-1665.
15. **Kelbich, P., Slavík, S., Jasanská, J. et al.** Hodnocení energetických poměrů v likvorovém kompartmentu pomocí vyšetřování vybraných parametrů metabolismu glukosy v CSF. *Klin. Biochem. Metab.*, 1998, 6(27), s. 213-225.
16. **Kelbich, P., Koudelková, M., Machová, H. et al.** Význam urgentního vyšetření mozkomíšního moku pro včasnou diagnostiku neuroinfekcí. *Klin. Mikrobiol. Inf. Lék.*, 2007, 13(1), s. 9-20.
17. **Kelbich, P., Adam, P., Sobek, O. et al.** Základní vyšetření likvoru v diagnostice postižení centrálního nervového systému. *Neurol. pro praxi*, 2009, 10(5), s. 285-289.
18. **Kelbich, P., Hejčl, A., Procházka, J., Hanuljaková, E., Peruthová, J., Špička, J.** Cytologie a energetika jako důležité atributy vyšetření likvoru. *Klin. Biochem. Metab.*, 2012, 20(41), s. 17-24.
19. **Krejsek, J., Kopecký, O.** *Klinická imunologie*. 1st ed. NUCLEUS HK, 2004, ISBN 80-86225-50-X.
20. **Marko, A. J., Miller, R. A., Kelman, A., Frauwirth, K. A.** Induction of Glucose Metabolism in Stimulated T Lymphocytes Is Regulated by Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling. *PLoS ONE*, 2010, 5(11), e15425.
21. **Michalek, R. D., Rathmell, J. C.** The metabolic life and times of a T-cell. *Immunol. Rev.*, 2010, 236, s. 190-202.
22. **Prasad, K., Sahu, J. K.** Cerebrospinal fluid lactate: Is it a reliable and valid marker to distinguish between acute bacterial meningitis and aseptic meningitis? *Crit. Care.*, 2011, 15(1), s. 104.
23. **Redzic, Z.** Molecular biology of the blood-brain and the blood-cerebrospinal fluid barriers: similarities and differences. *Fluids Barriers CNS*, 2011, 8, s. 3.
24. **Reinstrup, P., Stáhl, N., Møllergård, P., Uski, T., Ungerstedt, U., Nordstöm, C.-H.** Intracerebral Microdialysis in Clinical Practice: Baseline Values for Chemical Markers during Wakefulness, Anesthesia, and Neurosurgery. *Neurosurgery*, 2000, 47(3), s. 701-709.

25. **Simpson, I. A., Carruthers, A., Vannucci, S. J.** Supply and demand in cerebral energy metabolism: the role of nutrient transporters. *J Cereb. Blood Flow Metab.*, 2007, 27(11), s. 1766-1791.
26. **Šterzl, J.** *Imunitní systém a jeho fyziologické funkce.* 1st ed. Praha, ČIS, 1993.
27. **Tisdall, M. M., Smith, M.** Cerebral microdialysis: research technique or clinical tool. *Br. J Anaesth.*, 2006, 97, s. 18-25.
28. **Veening, J. G., Barendregd, H. P.** The regulation of brain states by neuroactive substances distributed via the cerebrospinal fluid; a review. *Cerebrospinal Fluid Res.*, 2010, 7, s. 1.

Práce byla podpořena programem „PRVOUK“ P37/09 a programem „PRVOUK“ P37/10 Univerzity Karlovy v Praze, Lékařské fakulty v Hradci Králové.

Do redakce došlo 17. 8. 2012

Adresa pro korespondenci:

*RNDr. Ing. Petr Kelbich
oddělení klinické biochemie, hematologie a imunologie
Nemocnice Kadaň s.r.o.
Golovinova 1559
432 01 Kadaň
e-mail: kelbich@nemkadan.cz*

Význam a možnosti vyšetřování metabolismu mozku pomocí mikrodialýzy v neurointenzivní péči

Hejčí A.^{1,7,8,9}, Kelbich P.^{3,4,5}, Bolcha M.¹, Procházka J.², Hušková E.², Peruthová J.^{4,6}, Sameš M.¹

¹Neurochirurgická klinika Univerzity J. E. Purkyně, Krajská zdravotní, a. s. - Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.

²Oddělení intenzivní medicíny, Krajská zdravotní, a.s. - Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.

³Oddělení klinické biochemie, Krajská zdravotní, a.s. - Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.

⁴Oddělení klinické biochemie, hematologie a imunologie Nemocnice Kadaň s.r.o.

⁵Ústav klinické imunologie a alergologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze

⁶Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice

⁷Centrum klinického výzkumu ICRC, Brno

⁸Ústav experimentální medicíny AVČR, v.v.i., Praha

⁹Neurochirurgická klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Ústřední vojenské nemocnice v Praze

SOUHRN

Cíle studie: 1. Seznámení biochemické obce s využitím mikrodialýzy v neurochirurgii, resp. v neurointenzivní péči. 2. Představení hypotézy o kreatinfosátu coby alternativním zdroji energie pro mozkovou tkáň.

Typ studie: Přehledná práce

Materiál a metody: Sběr vzorků extracelulární tekutiny umožňuje ve standardním protokolu vyšetřit metabolity glukózového metabolismu s cílem včasného zachytu rozvíjející se ischemie mozku. Mikrodialýzu využíváme převážně u pacientů po kraniocerebrálním poranění či subarachnoidálním krvácením z prasklé mozkové výdutě. Nicméně v odebraných vzorcích je možno vyšetřit rozsáhlou škálu dalších metabolitů a biologicky aktivních látek a rozšířit tak naše poznání o procesech probíhajících v mozku.

Výsledky: Shrnujeme poznatky o mikrodialýze v neurointenzivní péči neurochirurgických pacientů, možnosti vlivu na aktuální terapii stejně jako význam prediktivní. V naší experimentální práci se zaměřujeme na metabolismus kreatinfosátu, který dle našich prvních pozorování může být klíčovou energetickou alternativou kyslíkového metabolismu, jak demonstrujeme na dvou kazuistikách.

Závěr: Mikrodialýza nabízí možnost přímé, průběžné monitorace metabolismu mozku v běžné klinické praxi. Standardní diagnostiku lze rozšířit o spektrum dalších metabolitů a biologicky aktivních látek. Dle našich prvních pozorování může být kreatinfosát významným alternativním zdrojem energie pro mozek.

Klíčová slova: mikrodialýza, neurointenzivní péče, metabolismus mozku, metabolismus glukózy, kreatinfosátový systém.

SUMMARY

Hejčí A., Kelbich P., Bolcha M., Procházka J., Hušková E., Peruthová J., Sameš M.: Significance and possibilities to examine brain metabolism in neurointensive care by microdialysis.

Objective: 1st Introducing microdialysis and its use in neurosurgery, or neurointensive care, respectively, to professionals in the field of biochemistry. 2nd Introduce the hypothesis on creatinphosphate, an alternative source of energy for the brain tissue.

Design: Review article

Methods: Collection of samples of the extracellular fluid enables examination of metabolites of the glucose oxidative metabolism with the aim of detecting early signs of brain ischemia. Microdialysis is used predominantly in patients with brain injury and subarachnoid hemorrhage after aneurysm rupture. Nonetheless, the samples may be examined for a wide scale of metabolites and biological active substances and extend our knowledge of brain metabolism.

Results: We summarize the current knowledge on the use of microdialysis in neurointensive care of neurosurgical patients, its influence on the therapy and its predictive meaning. In the experimental work we focused on the metabolism of creatine phosphate, which, according to our first observations, can represent alternative energy to glucose oxidative metabolism, as demonstrated on 2 case reports.

Conclusions: Microdialysis provides direct and continuous online monitoring of brain metabolism in everyday clinical practice. Standard diagnostics can be extended for a spectrum of various other metabolites; the metabolism of creatine phosphate may, according to our first observations, be an alternative source of energy for the brain.

Keywords: microdialysis, neurointensive care, brain metabolism, glucose metabolism, creatine phosphate system

Úvod

Pro léčbu a monitoraci stavu mozku za různých patologických situací je v neurointenzivní péči zásadní znát stav mozkové tkáně. V současné době máme k dispozici kombinaci neurologického vyšetření, zobrazovacích vyšetření, vyšetření mozkomíšního moku a u pacientů v bezvědomí měření intrakraniálního tlaku (ICP = intracranial pressure). Novou modalitou, která umožňuje vyšetřování metabolismu mozku je mikrodialýza [1]. Pomocí mikrodialyzačního katétru implantovaného v mozku (obr. 1 A, B) získáváme vzorky extracelulární tekutiny (ECT), ve kterých následně vyšetřujeme parametry metabolismu glukózy a koncentrace glycerolu. V získaném materiálu lze dále vyšetřit velké množství dalších metabolitů a biologicky aktivních látek, což nabízí ohromný potenciál pro studium mozku jak v laboratorních, tak i v běžných klinických podmínkách. V první části našeho sdělení předkládáme základní údaje o mikrodialýze z pohledu neurochirurgie a neurointenzivní péče [2 - 4]. V druhé části pak prezentujeme vlastní úvahu o možném významu kreatinfosfátového systému při krátkodobé insuficienci kyslíkového metabolismu v mozku.

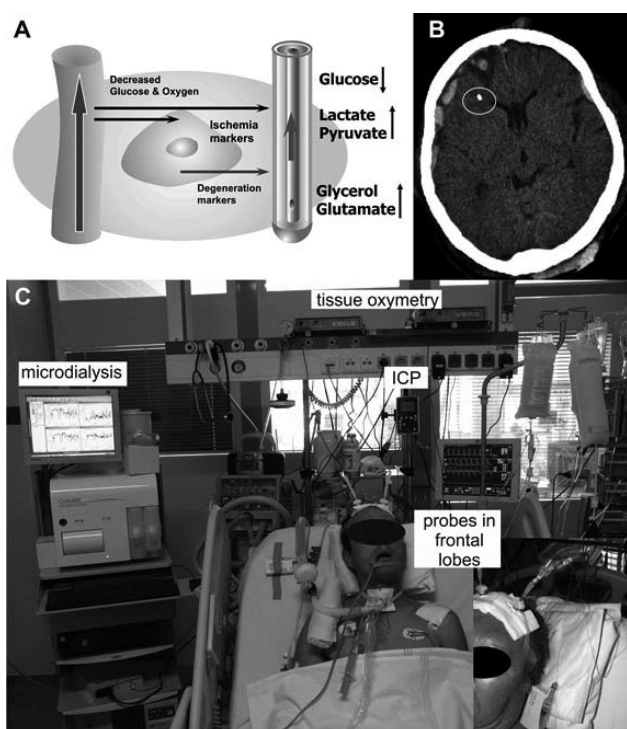


Fig. 1: Microdialysis in neurointensive care

1A. The principle of a microdialysis probe (right), mimicking a brain blood vessels (left). The semi-permeable membrane of the microdialysis probe allows for diffusion of metabolites into the probe, being delivered via the perfusion fluid into a microvial, which is then analyzed. Glucose and oxygen are delivered to the brain. In case of ischemia, the concentration of glucose decreases, while the concentrations of lactate and pyruvate increase. More severe ischemia results in cellular membranes degradation, resulting in increased glycerol.

1B. A CT scan of a patient with acute subdural hematoma associated with contusion in the right frontal lobe and implanted ICP, tissue oxymetry and microdialysis probes (inside the white circle).

1C. Multimodal monitoring at the intensive care unit (ICU). A patient with two sets of probes implanted in frontal lobes. In detail: A patient with an implanted microdialysis probe at the Neuro-ICU. Microdialysis pump propels the perfusion fluid, and later it is collected in microvials, which are analyzed every 60 minutes.

Mikrodialýza

Mikrodialýza byla od 60. let 20. století vyvíjena ve Švédsku prof. Urbanem Ungerstedtem. Profesor Ungerstedt zkoumal cévy v řezech nervové tkáně a vyvinul katétry, které napodobují funkci cév v nervové tkáni a pomocí difúze zajišťují výměnu mezi proplachovým roztokem a ECT (obr. 1 A). Primárně byla tato metoda testována v nervové tkáni, nicméně dnes je využívána pro vyšetřování prakticky všech ostatních biologických tkání. V našem sdělení se však budeme zabývat pouze jejím využitím v problematice centrálního nervového systému (CNS) neurochirurgických a „neurointenzivistických“ pacientů.

Principem mikrodialýzy (obr. 1 A) je dvojité dutý katétr promývaný perfúzním roztokem na bázi Ringerova roztoku. Katétretem teče konstantní rychlostí perfúzní roztok. Vnější semipermeabilní membrána umožňuje výměnu metabolitů, resp. „sběr“ metabolitů z extracelulární tekutiny tkáně. Vnitřní membránou pak takto „obohacený“ roztok odtéká do mikroampulky, ze které je odebrán k následné analýze.

Průběh „sběru“ ECT je závislý na několika faktorech. Dva z těchto faktorů můžeme do určité míry ovlivnit. Za prvé je to rychlost toku perfúzního roztoku. Ta je dána rychlostí perfúzní pumpy. Standardně se prodávají a užívají mikrodialyzační pumpy s průtokem 0,3 µl/min. Tato rychlost umožňuje získat přibližně 70 % reálných koncentrací analyzovaných látek v ECT. Jsou k dispozici i pumpy s průtokem 1,0 µl/min pro vyšetřování krátkodobých pochodů (např. rozvoj ischemizace nervové tkáně při dočasném klipu aneuryzmatu, což je většinou událost několika málo minut apod.). Pro běžnou praxi ale není nutné přepočítávat koncentrace metabolitů na reálné hodnoty, neboť nás spíše zajímají jejich vývojové trendy.

Dalším důležitým parametrem je propustnost semi-permeabilní membrány. K dispozici máme standardní katétry o propustnosti 20 kDa. Vzhledem k metabolitům, které jsou standardně vyšetřovány (glukóza, pyruvát, laktát, glycerol), je tato hodnota naprosto dostatečná. Pro vyšetřování proteinů jsou k dispozici katétry o velikosti 100 kDa.

Průběžné stanovení koncentrací glukózy v ECT se provádí metodou s glukózooxidázou a peroxidázou, pyruvátu metodou s pyruvátoxidázou a peroxidázou, laktátu metodou s laktátoxidázou a peroxidázou a glycerolu v ECT metodou s glycerolkinázou, glycerolfosfátoxidázou a peroxidázou na spektrofotometru, který je součástí analyzátoru CMA 600 Microdialysis či ISCUS-flex (CMA Microdialysis AB, Kista, Švédsko).

Naše hlavní pozornost je věnována analýze parametrů energetického metabolismu glukózy, tedy koncentracím glukózy, pyruvátu a laktátu v ECT. Glukóza je dominujícím energetickým substrátem pro tkáň CNS, pyruvát je významný meziprodukt energetického metabolismu a laktát produkt anaerobního metabolismu. Podstatné je sledování případného rozvoje anaerobního metabolismu v mozku. S jeho zvyšujícím se rozsahem dochází ke snížení produkce energie v podobě adenosintrifosfátu (ATP). Tento pokles je do jisté míry eliminován hyperglykózą a zvýšením metabo-

lického obratu. Při nedostatečné oxygenaci mozku tak dochází ke snížení koncentrace glukózy a zároveň ke zvýšení koncentrací pyruvátu a laktátu v ECT. Dalším ze standardně vyšetřovaných parametrů je degradační produkt lipidů glycerol, coby marker tkáňové destrukce. Jeho zvýšená koncentrace v ECT je spolehlivou indikací zvýšeného rozpadu buněk při nekróze, např. na podkladě těžké ischemie či traumatu mozku. Posledním běžně vyšetřovaným metabolitem je glutamát. Z hlediska funkce mozku se jedná o excitační aminokyselinu, jejíž hladina se zvyšuje u rozvíjející se či probíhající ischemie. Glutamát je tak velmi dobrým indikátorem ischemie u pacientů se subarachnoidálním krvácením (SAK) [5,6] a využívá se ho především v diagnostice vazospazmů. Navíc má značný prediktivní význam, neboť jeho zvýšená koncentrace koreluje se špatným klinickým výsledkem těchto pacientů [7]. Jak již bylo uvedeno výše, získání vzorku extracelulární tekutiny CNS umožňuje provést vyšetření množství dalších parametrů, čímž získáváme velký prostor pro experimentální studium mozku v klinice i v základním výzkumu. Vždyť počet publikací týkajících se mikrodialýzy je dnes již přes 13 000!

Využití mikrodialýzy u pacientů v neurointenzivní péči

Cerebrovaskulární problematika

Mikrodialýza je nejčastěji využívána u pacientů se subarachnoidálním krvácením, méně u pacientů s intracerebrálním hematomem či po iktu (obr. 1 B, C). Nejčastější využití je u pacientů se subarachnoidálním krvácením na podkladě ruptury intrakraniálního aneuryzmatu. Po ruptuře aneuryzmatu dochází dle různých studií ve 30-70 % případů k rozvoji vazospazmů. Klinický projev vazospazmů je nazýván pozdní ischemický neurologický deficit (DIND – delayed ischemic neurological deficit); ten lze pozorovat u 15-20 % pacientů. Následkem je pak rozvoj iktu či úmrtí. Mikrodialýza se využívá právě k monitoraci tkáně ohrožené vazospazmy. Dle konsenzu z roku 2004 se doporučuje zavést katétr mikrodialýzy do povodí mateřské tepny aneuryzmatu, tedy do oblasti s nejvyšším rizikem rozvoje vazospazmů [8]. Skjøth-Rasmussen et al. [9] sledovali u 42 pacientů se SAK parametry mikrodialýzy (poměr laktát/pyruvát – LP poměr, poměr laktát/glukóza – LG poměr, koncentrace glycerolu). Za indikátory ischemie mozkové byly považovány: elevace LP poměru a LG poměru o 20 % následované zvýšením koncentrace glycerolu o více než 20 % v průběhu 24 hodin. U 17 pacientů z 18 s rozvojem DIND autoři zjistili, že došlo k elevaci LP a LG poměrů více jak 20 hodin a k elevaci koncentrace glycerolu 7 hodin před rozvojem klinických změn. Podle této studie tedy mikrodialýza nabízí možnost časně diagnózy rozvoje klinických vazospazmů, což lze využít v časném zahájení preventivních a terapeutických opatření (intenzifikace tzv. „2H“ terapie – hypertenze a hypervolemie). Specifita rozvoje DIND podle mikrodialýzy je 89 % a senzitivita 82 %. Unterberg et al. porovnávali specifitu mikrodialýzy, transkraniální

dopplerometrie (TCD) a digitální substrakční angiografie (DSA) v diagnostice DIND. Jako definici sekundární neurologické deteriorace podle mikrodialýzy považovali hodnoty laktátu > 4 mmol/l a glutamátu > 3 μmol/l po dobu nejméně 6 hodin. Ve studii ukazují, že mikrodialýza má v porovnání s ostatními standardně užívanými diagnostickými metodami nejvyšší pozitivní prediktivní hodnotu pro rozvoj DIND u pacientů se SAK při ruptuře aneuryzmatu [10].

Jinou skupinou jsou pacienti se spontánním intracerebrálním hematomem (ICH). Miller et al. po odsátí intracerebrálního hematomu implantovali katétr mikrodialýzy do přilehlé tkáně. Zjistili zvýšené koncentrace glutamátu v ECT a normální hodnoty LP poměru v okolní tkáni. Tyto výsledky ukazují, že intracerebrální hematomy nejsou obklopeny tkání se známkami ischemické penumbry, ale spíše oblastí hyperexcitační aktivity [11]. Na druhou stranu monitorace metabolismu tkáně v okolí hematomu může pomoci v nastavení např. správného perfúzního tlaku mozku u pacientů se spontánním ICH [12].

Neurotraumatologická problematika

Pacienti s neurotraumaty jsou ohroženi rozvojem ischemie mozku. Důvodů může být několik, například pacienti s intrakraniální hypertenzí jsou ohroženi nedostatečnou perfúzí mozku. Nárůst intrakraniálního tlaku často souvisí s progresí patofyziologických procesů, tzn. edému mozku, prokrvácení kontúze, progresse krvácení apod. Při diagnostice postižení pacientů, kteří jsou v bezvědomí a kontinuálně analgosedováni, zjistíme změny až dle nárůstu ICP, jehož sledování je standardem péče. Monitorace metabolických změn by ale mohla zrychlit diagnostiku patologických změn. Tuto tézi podporují některé publikované výsledky. Belli et al zjistili, že patologická elevace LP poměru (nad 25) v 89 % předpověděla elevaci intrakraniálního tlaku nad 20 mmHg [13]. Adamides et al. ve studii na 14 pacientech s těžkým poraněním mozku s monitorováním ICP a tkáňového metabolismu dospěli ke zjištění, že nárůst koncentrací tkáňového laktátu, poměru laktát/pyruvát a glycerolu o více než 2 hodiny předcházely elevacím ICP [14]. Z dosavadních studií se tak v tomto ohledu zdá být nejzásadnějším ukazatelem LP poměr.

Pokud se týká vztahu mezi tkáňovým metabolismem a klinickým vývojem, existuje několik prací, jejichž výsledky však nejsou zcela jednoznačné. Li et al. [15] zjistili korelaci vyšších koncentrací glycerolu se špatným klinickým vývojem. Podobně i Peerdemann et al. [16] zjistili 100 % prediktivní hodnotu špatného klinického stavu pacientů, pokud se v průběhu jejich monitorace objevila elevace koncentrace glycerolu v ECT nad 150 μmol/l. Na druhou stranu ale Clausen et al. korelaci mezi koncentracemi extracelulárního glycerolu mozku a výsledným klinickým stavem pacientů nenašli [17]. V rámci naší vlastní studie jsme zjistili korelaci mezi patologicky vysokou koncentrací glycerolu a LP poměru v perilezionální oblasti s úmrtím pacientů po těžkém kraniocerebrálním poranění. Naopak u koncentrací glukózy v ECT jsme významnou prediktivní hodnotu nezjistili [18]. Nejednotnost výsledků může souviset s tím, že mikrodialýza jako lokální metoda dokáže de-

tekovat změny pouze v nejbližším okolí implantovaného katétru. Je proto vždy důležité identifikovat, z které části mozku je vyšetřovaná ECT získána (obr. 1 B).

Kreatinin coby neuromarker?

Mikrodialýza je tedy velmi dobrým nástrojem sledování metabolismu tkáně v podstatě „přenašeného téměř v reálném čase“. Oblastí, na kterou jsme se zaměřili na našich pracovištích je alternativní substituce energetických potřeb mozku kreatinfosfátovým systémem při krátkodobé insuficienci kyslíkového metabolismu. V tkáních s vysokým energetickým obrátem, jako je pruhované svalstvo a zřejmě též mozek, slouží kreatinfosfátový systém coby zdroj energie [19]. Tato energie je kumulována v kreatinfosfátu vznikajícím za katalytického působení kreatinfosfokinázy (CK) fosforylací kreatinu. K jejímu uvolnění pak dochází neenzymatickou defosforylací kreatinfosfátu za produkce odpadního kreatininu. A právě analyticky dostupný kreatinin nás velmi zajímá coby ukazatel poskytování energie kreatinfosfátovým systémem v mozku.

Kreatin se syntetizuje převážně v játrech či slinivce břišní [20] a existují literární zmínky o jeho produkci přímo v mozku [21]. Experimentálně bylo prokázáno, že astrocyty jej dokáží syntetizovat z glycinu přidaného do kulturačního média [22]. Syntéza probíhá ve 2 krocích, které jsou katalyzovány L-argininglycinamidinotransferázou (AGAT) a S-adenosylmethioninguanidinacetát N-metyltransferázou (GAMT). Ubiquiterní mitochondriální CK se selektivně nachází v mitochondriích neuronů, zatímco mozkově specifická CK se nachází v astrocytech a inhibičních neuronech. Jak astrocyty, tak i inhibiční neurony jsou značně odolné proti akutní ztrátě energie [23]. GAMT je převážně obsažena v gliích, zvláště v oligodendrocytech a olfaktorických gliálních elementech a relativně často také v astrocytech [19]. Neuronální axony spotřebovávají ohromné množství energie k udržení iontových gradientů přes axolemu, propagaci akčních potenciálů a transportu molekul do vzdálených míst. Z tohoto důvodu je pro správné fungování kreatinfosfátového systému vztah mezi gliemi a neurony zásadní.

Vedle zmíněné intrathekální syntézy je ale kreatin též aktivně transportován do mozku přes hematoencefalickou bariéru pomocí Na a Cl-dependentního transportního systému (CRT) [24].

Naše hypotéza

Pro udržení vysokého stupně uspořádanosti mozkové tkáně je potřeba stálých dodávek velkého množství energie. Ty jsou zajištěny především aerobní přeměnou glukózy. Vedle toho je synapsemi využíván též energetický potenciál laktátu.

Předpokládáme, že existuje energetická alternativa pro krytí energetických potřeb mozku při krátkodobých výpadcích dodávek kyslíku. Její úlohu pravděpodobně plní kreatinfosfátový systém. Tuto úvahu podporují především zmíněná intrathekální syntéza kreatinu, existence transportního systému pro kreatin na hematoencefalické bariéře (SLC6A8) a také existence mozkového isoenzymu kreatinfosfokinázy (CK-BB).

S použitím mikrodialýzy jsme u 6 pacientů (5 mužů a 1 žena) analyzovali hladiny kreatininu v ECT mozku.

Sedování a ventilovaní pacienti měli implantovaný katétr mikrodialýzy a parenchymové čidlo k měření intrakraniálního tlaku a tkáňové oxymetrie. Hodnoty ICP a tkáňové oxymetrie byly registrovány kontinuálně, vzorky mikrodialýzy byly odebírány po 60 minutách. Po analýze standardně vyšetřovaných parametrů v ECT (koncentrace glukózy, laktátu, pyruvátu a glycerolu) byly zbytky vzorků slity po 12 či 24 hodinách (v závislosti na množství zbytkových vzorků) a použity k měření koncentrací glukózy enzymatickou metodou s hexokinázou, laktátu enzymatickou metodou s laktát oxidázou a peroxidázou a kreatininu metodou Jaffé na biochemickém analyzátoru Architect, fy Abbott Laboratories.

Pro hodnocení energetických poměrů v mozkovém parenchymu jsme použili výpočty koeficientu energetické bilance (KEB), doposud používaného pro sledování rozsahu anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu [25 - 29].

Během našich pozorování jsme zaregistrovali častý nárůst koncentrací kreatininu v ECT po epizodách závažných poruch metabolismu mozkové tkáně s nápadnými poklesy hodnot KEB či známkami tkáňové hypoxie prokázanými tkáňovou oxymetrií.

Tuto situaci ilustrujeme na 2 kazuistikách:

Kazuistika 1 (obr. 2, Tabulka 1)

70letý pacient byl přijat do nemocnice pro kruté bolesti hlavy s následnou poruchou vědomí na akutním příjmu, která rychle progredovala (Hunt-Hess 5). Pacient byl zaintubován. Dle CT a CT angiografie mozku bylo zjištěno subarachnoidální krvácení s objemným intracerebrálním hematomem v pravém frontálním loku při ruptuře aneuryzmatu přední komunikující artérie (Fisher 4). Pacient byl akutně operován, aneuryzma bylo uzavřeno klipem a většina hematomu byla odsáta. Následně byl sledován na jednotce intenzivní péče. Čtvrtý pooperační den došlo ke zhoršení jeho stavu. Vzhledem k progresi rychlosti průtoku krve dle transkraniální dopplerometrie byla 6. pooperační den provedena intraarteriální aplikace vazospasmolytik (milrinon i.a., 20 mg po dobu 30 min) a implantace čidla multimodální monitorace (čidlo intrakraniálního tlaku, tkáňové oxymetrie a mikrodialýzy). Intrakraniální tlak byl patologicky vysoký, proto jsme přistoupili k bifrontální dekompresivní kraniektomii.

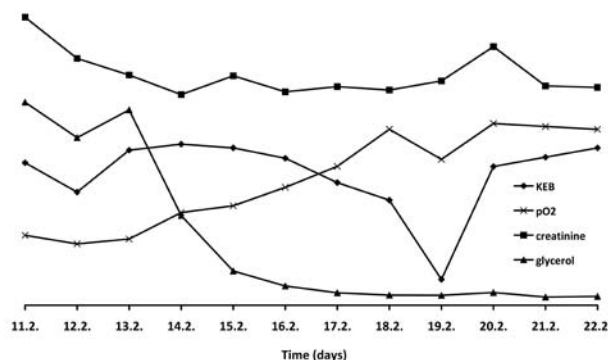


Fig. 2: Brain metabolism, brain tissue oxymetry, and creatinine concentrations in a Case 1 patient. The graph represents trends of the monitored parameters, while the real concentrations are in the Table below.

Table 1

Day	11. 2.	12. 2.	13. 2.	14. 2.	15. 2.	16. 2.
glucose (mmol/l)	1.3	1.1	1.9	2.3	3.2	2.2
lactate (mmol/l)	11.7	15.0	11.9	11.7	19.0	17.4
KEB	-118.1	-217.4	-75.7	-55.2	-68.0	-103.0
creatinine (μmol/l)	158.0	111.5	92.8	70.8	91.9	73.9
glycerol (μmol/l)	1144.2	944.5	1100.9	505.3	192.6	108.3
pO ₂ (mmHg)	6.1	1.2	4.0	18.9	22.7	33.1
Day	17. 2.	18. 2.	19. 2.	20. 2.	21. 2.	22. 2.
glucose (mmol/l)	1.6	1.3	0.7	2.4	2.2	2.7
lactate (mmol/l)	20.2	20.7	21.9	22.7	16.8	15.9
KEB	-185.4	-244.7	-512.8	-130.8	-99.3	-68.0
creatinine (μmol/l)	79.8	75.9	86.2	124.8	80.5	78.9
glycerol (μmol/l)	69.8	57.0	55.7	71.4	46.0	49.5
pO ₂ (mmHg)	45.0	65.8	48.9	69.1	67.4	65.8

Metabolismus mozku byl tedy sledován od 6. dne po vzniku SAK. Hned při prvních vyšetřeních ECT v době od 19.00 do 24.00 hod. dne 11. 2. 2011 pozorujeme nápadně zvýšenou koncentraci kreatininu. Tento jev si vysvětlujeme „výpadky“ kyslíkového metabolismu v mozku v těsně předcházejícím období, během něhož jsme registrovali vazospazmy a před provedením dekompresivní kraniektomie rovněž vysoký intrakraniální tlak. Předpokládáme, že nedostatečná produkce energie následkem zhoršené oxygenace mozku byla substituována defosforylací kreatinfosfátu vedoucí k nadprodukci kreatininu.

Dne 12. 2. dosahuje pO₂ v mozku svého minima. Tomu odpovídá též náhlé zvýšení rozsahu anaerobního metabolismu v extracelulárním prostředí mozku vyjádřené nápadným snížením hodnoty KEB. Následně ale k nárůstu koncentrace kreatininu v ECT nedochází. V souvislosti s pozorovaným jevem zvažujeme, že v krátkém období, navíc energeticky insuficientním, nedošlo k deponování využitelného energetického potenciálu do kreatinfosfátu. Další „výpadek“ kyslíkového metabolismu v mozku tak zůstal bez alternativní energetické saturace kreatinfosfátovým systémem, což vedlo k dalšímu poškození tkáně mozkového parenchymu, čemuž odpovídá nápadný nárůst koncentrace glycerolu dne 13. 2.

V období od 13. 2. do 18. 2. se zvyšuje oxysličení mozku. Současný pozvolný pokles hodnot KEB sledujících zvyšující se rozsah anaerobního metabolismu v extracelulárním prostředí mozku přičítáme posttraumatickému reparačnímu zánětlivému procesu v této lokalitě. Ostatně tomu odpovídá též uspokojivě se snižující koncentrace glycerolu v ECT. V tomto energeticky příznivém období jsou vhodné podmínky pro regeneraci kreatinfosfátového systému.

Dne 19. 2. dochází ke zhoršení oxysličení mozku a k náhlému výraznému zvýšení anaerobního metabolismu v jeho extracelulárním prostředí. Jenomže v tomto případě je již „výpadek“ kyslíkového metabolismu úspěšně substituován uvolněním energie z kreatinfosfátu, o čemž svědčí nápadné zvýšení koncentrace

odpadního kreatininu v ECT dne 20. 2. Že i přes dočasnou insuficienci kyslíkového metabolismu dokázal kreatinfosfátový systém alternativně saturovat vysoké energetické potřeby mozku a zabránit tak porušení jeho integrity, svědčí přetrvávající nízké koncentrace glycerolu v ECT.

Kazuistika 2 (obr. 3, Tabulka 2)

57letá pacientka byla akutně operována pro rupturu aneuryzmatu střední mozkové tepny. Při operaci byl částečně evakuován intracerebrální hematom v pravém temporálním laloku. Pro přetrvávající edém na podkladě zbytkového hematomu byla 4. den po SAK provedena dekompresivní kraniektomie. Pro rozvoj vazospazmů proximálních úseků pravé střední a přední mozkové tepny (M1 a A1 dx) byla 8. a 11. den aplikována intraarteriálně spasmolytika (milrinon 0,25 mg/min, celková dávka 8 mg).

Metabolismus mozku byl tedy monitorován od 4. dne po SAK. Dne 5. 3. odpoledne zaznamenáváme zhoršení kyslíkového metabolismu mozku vyjádřené snížením hodnoty KEB (tkáňová oxymetrie mozku nebyla u této pacientky monitorována). Ještě v průběhu této epizody se zvyšuje koncentrace kreatininu v ECT s kulminací v dopoledních hodinách následujícího dne.

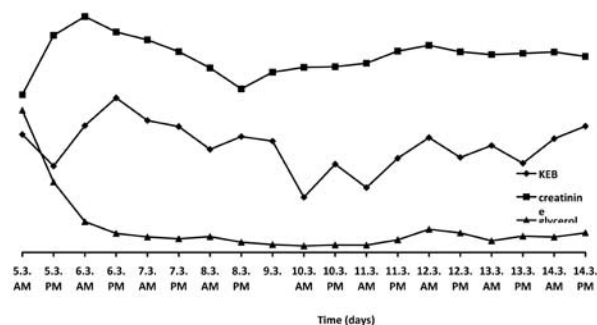


Fig. 3: Brain metabolism monitoring in a Case 2 patient, four days after SAH. The graph represents trends of the monitored parameters, while the real concentrations are in the Table below.

Table 2

Day	5. 3. AM	5. 3. PM	6. 3. AM	6. 3. PM	7. 3. AM	7. 3. PM
glucose (mmol/l)	0.4	0.7	0.9	1.4	0.9	0.8
lactate (mmol/l)	3.0	7.0	5.7	4.8	5.1	4.9
KEB	-88.4	-145.1	-72.7	-22.9	-63.5	-74.3
creatinine (μmol/l)	43.9	118.3	141.9	122.6	112.6	97.9
glycerol (μmol/l)	206.3	102.3	52.7	37.9	33.4	31.1
Day	8. 3. AM	8. 3. PM	9. 3.	10. 3. AM	10. 3. PM	11. 3. AM
glucose (mmol/l)	0.5	0.6	0.7	0.4	0.6	0.5
lactate (mmol/l)	4.3	4.6	5.5	5.6	5.8	6.2
KEB	-115.2	-92.2	-100.4	-201.1	-141.7	-183.8
creatinine (μmol/l)	77.5	51.2	72.2	78.2	79.0	83.4
glycerol (μmol/l)	33.8	26.8	23.9	22.2	23.4	23.2
Day	11. 3. PM	12. 3. AM	12. 3. PM	13. 3. AM	13. 3. PM	14. 3. AM
glucose (mmol/l)	0.7	0.9	0.7	0.7	0.7	0.8
lactate (mmol/l)	6.7	6.7	6.4	5.9	6.6	6.2
KEB	-131.1	-94.1	-129.7	-108,3	-140.1	-96.0
creatinine (μmol/l)	98.6	105.8	97.7	94.2	95.7	97.4
glycerol (μmol/l)	29.8	43.1	38.5	28.6	34.5	33.3
Day	14.3. PM					
glucose (mmol/l)	1.0					
lactate (mmol/l)	6.2					
KEB	-73.6					
creatinine (μmol/l)	91.9					
glycerol (μmol/l)	38.6					

Popsaný obraz jsme vyhodnotili jako vykrytí dočasné kyslíkové insuficience v mozku defosforylací kreatinfosfátu. Úvahu, že díky energetické substituci kreatinfosfátovým systémem nedošlo k poškození tkáně mozku, podporuje příznivý trend v podobě nadále se snižující koncentrace glycerolu v ECT.

Další dvě po sobě jdoucí epizody zhoršení kyslíkového metabolismu pozorujeme 10. 3. a 11. 3. v dopoledních hodinách v podobě snížených hodnot KEB. Opět následuje zvýšení koncentrace kreatininu v ECT kulminující 12. 3. dopoledne, což vyhodnocujeme jako projev energetické substituce kyslíkové insuficience v mozku defosforylací kreatinfosfátu. Jisté zvýšení koncentrace glycerolu v ECT 12. 3. dopoledne nasvědčuje tomu, že se tato událost neobešla zcela bez nepříznivého dopadu na mozkovou tkáň. Rychlá normalizace stavu však zřejmě znamená pouze malý rozsah poškození, pravděpodobně díky neuroprotektivnímu efektu kreatinfosfátového systému.

Diskuze

Mikrodialýza se v neurointenzivní péči využívá od 90. let 20. století. Jejím razantnějším rozšíření zatím brání často nejednoznačný terapeutický algoritmus v závislosti na obtížné interpretaci výsledků měření a také finanční náročnost jejího pořízení a následného provozu. Na

druhou stranu tato metoda umožňuje přímý pohled na energetický metabolismus mozkové tkáně v místě implantace čidel a podle některých studií nabízí možnost včasného varování, např. při rozvoji vazospazmů či před nárůstem intrakraniálního tlaku. V porovnání s mikrodialýzou je jiná obdobná metoda, tkáňová oxymetrie mozku (např. systém Licox, Integra Neurosciences, Plainsboro, NJ, USA), přímočařejší a jednodušší. Zatímco tkáňová oxymetrie informuje pouze o dodávce kyslíku mozkové tkáni, mikrodialýza podává informaci o efektivitě využití kyslíku mozkovou tkání. V naší praxi neurointenzivní péče používáme kombinace obou systémů.

Druhým zajímavým aspektem mikrodialýzy je využití experimentální, jak na úrovni laboratorní, tak i klinické. Díky tomu, že získáváme vzácnou extracelulární tekutinu CNS, můžeme tuto podrobit analýze různých metabolitů a biologicky aktivních látek. My jsme se na našich pracovištích zaměřili na vyšetřování energetických poměrů v CNS; mimo jiné také proto, že s nimi máme velice dobrou zkušenost při vyšetřování mozkomíšního moku.

Úvahy o vícezdrojovém energetickém zásobení CNS nás dovedly k zakomponování alternativního energetického systému do monitorace procesů v mozkovém parenchymu. Tím je dočasná kumulace energie v podobě kreatinfosfátu a její uvolnění při zvýšených energetických nárocích mozku, příp. při výpadku kyslíkového metabolismu. Z našich dosavadních pozorování, jejichž příkladem jsou uvedené kazuistiky, pak vyplývá, že samotný

dočasný výpadek kyslíkového metabolismu nemusí pro mozek znamenat ireverzibilní poškození, pokud je zároveň dostatečně zregenerovaný kreatinfosfátový systém. Nepříznivá situace nastává teprve v případě po sobě následujících výpadků kyslíkového metabolismu, kdy není umožněna kumulace energie v podobě kreatinfosfátu.

Naše představa je taková, že je do mozku dodáván, případně intrathékálně syntetizován, kreatin. V období hojnosti je energie kumulována v podobě kreatinfosfátu vzniklého fosforylací kreatinu za katalytického působení CK-BB. V období energetické nedostatečnosti (hypoxie mozku) dochází k neenzymatické defosforylaci kreatinfosfátu na kreatinin spřažené s fosforylací ADP na ATP. Tímto způsobem je tedy nouzově kryta energetická insuficience, čímž se zvyšuje naděje na zachování integrity mozkového parenchymu. Naše dosavadní měření tuto tezi podporují. Na příkladech jsme ukázali souvislost mezi poklesem KEB a následným „vzednutím alternativního energetického okruhu“ rezultujícího v elevaci koncentrací kreatininu v ECT. Nicméně je nutné toto verifikovat na daleko větším souboru pacientů, případně též cestou experimentálních laboratorních studií na zvířecích modelech.

Závěr

Mikrodialýza je unikátní metoda umožňující v neurointenzivní péči vyšetřování extracelulární tekutiny mozku, a tím pádem především monitorování jeho energetického metabolismu. Využívá se dominantně v neurotraumatologii a v cévní neurochirurgii. Některé dosavadní výsledky představují optimistickou vizi časně detekce sekundárního poranění a ischemizace mozku s možností pohotovosti, a tudíž účinnější terapeutické intervence. Obecně lze konstatovat, že mikrodialýza umožňuje vyšetřování celé škály rozličných metabolitů a biologicky aktivních látek v tkáních, čímž lze považovat spektrum jejího využití za téměř neomezené.

Všeobecně přijatým faktem je nezbytnost kyslíkového metabolismu pro zachování integrity mozkového parenchymu. V rámci multimodální monitorace mozku je proto této problematice věnována velká pozornost. Ta sleduje především odhalování konstelací výsledných hodnot sledovaných parametrů vedoucích k nevratnému poškození tkáně CNS, objektivizovanému zvýšenými koncentracemi glycerolu jakožto markeru tkáňové destrukce v extracelulární tekutině mozku. Výsledky našeho vlastního pozorování nás pak vedou k přesvědčení, že vliv výkyvů kyslíkového metabolismu na mozkovou tkáň je nesporný, nikoliv ale výhradní.

Literatura

1. Hejčl, A., Bartoš, R., Humhej, I., et al. Dekompresivní kraniektomie v léčbě posttraumatického edému mozku a přínos nových monitorovacích metod. *Cas. Lek. Cesk.*, 2007, 146, s. 307-312.
2. Hejčl, A., Bolcha, M., Procházka, J., Sameš, M. Multimodální monitorace u pacientů s těžkým poraněním mozku a subarachnoidálním krvácením. *Cesk. Slov. Neurol. N.*, 2009, 72(105), s. 383-387.
3. Hejčl, A., Sameš, M. Mikrodialýza v neurochirurgii. *Cesk. Slov. Neurol. N.*, 2009, 72(105), s. 511-517.
4. Hejčl, A., Krýsl, D., Kuliha, M., Marusič, P., Školoudík, D., Tomek, A. *Kompletní přehled neuromonitorace*. In: Tomek, A., (ed). *Neurointenzivní péče*. Praha: Mladá fronta, 2012, s. 87-102.
5. Nilsson, O. G., Brandt, L., Ungerstedt, U., Saveland, H. Bedside detection of brain ischemia using intracerebral microdialysis: subarachnoid hemorrhage and delayed ischemic deterioration. *Neurosurgery*, 1999, 45, s. 1176-1184.
6. Sarrafzadeh, A. S., Sakowitz, O. W., Kiening, K. L., Benndorf, G., Lanksch, W. R., Unterberg, A. W. Bedside microdialysis: a tool to monitor cerebral metabolism in subarachnoid hemorrhage patients? *Crit. Care Med.*, 2002, 30, s. 1062-1070.
7. Sarrafzadeh, A., Haux, D., Sakowitz, O., et al. Acute focal neurological deficits in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: relation of clinical course, CT findings, and metabolite abnormalities monitored with bedside microdialysis. *Stroke*, 2003, 34, s. 1382-1388.
8. Bellander, B. M., Cantais, E., Enblad, P., et al. Consensus meeting on microdialysis in neurointensive care. *Intensive Care Med.*, 2004, 30, 12, s. 2166-2169.
9. Skjoth-Rasmussen, J., Schulz, M., Kristensen, S. R., Bjerre, P. Delayed neurological deficits detected by an ischemic pattern in the extracellular cerebral metabolites in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.*, 2004, 100, s. 8-15.
10. Unterberg, A. W., Sakowitz, O. W., Sarrafzadeh, A. S., Benndorf, G., Lanksch, W. R. Role of bedside microdialysis in the diagnosis of cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.*, 2001, 94, s. 740-749.
11. Miller, C. M., Vespa, P. M., McArthur, D. L., Hirt, D., Etchepare, M. Frameless stereotactic aspiration and thrombolysis of deep intracerebral hemorrhage is associated with reduced levels of extracellular cerebral glutamate and unchanged lactate pyruvate ratios. *Neurocrit. Care*, 2007, 6, s. 22-9.
12. Ko, S. B., Choi, H. A., Parikh, G., et al. Multimodality monitoring for cerebral perfusion pressure optimization in comatose patients with intracerebral hemorrhage. *Stroke*, 2011, 42, s. 3087-3092.
13. Belli, A., Sen, J., Petzold, A., Russo, S., Kitchen, N., Smith, M. Metabolic failure precedes intracranial pressure rises in traumatic brain injury: a microdialysis study. *Acta Neurochir (Wien)*, 2008, 150, s. 461-469.
14. Adamides, A. A., Rosenfeldt, F.L., Winter, C. D., et al. Brain tissue lactate elevations predict episodes of intracranial hypertension in patients with traumatic brain injury. *J. Am. Coll. Surg.*, 2009, 209, s. 531-539.
15. Li, A. L., Zhi, D. S., Wang, Q., Huang, H. L. Extracellular glycerol in patients with severe traumatic brain injury. *Chin. J. Traumatol.*, 2008, 11, s. 84-88.
16. Peerdeman, S. M., Girbes, A. R., Polderman, K. H., Vandertop, W. P. Changes in cerebral interstitial glycerol concentration in head-injured patients; correlation with secondary events. *Intensive Care Med.*, 2003, 29, s. 1825-1828.
17. Clausen, T., Alves, O. L., Reinert, M., Doppenberg, E., Zauner, A., Bullock, R. Association between elevated brain tissue glycerol levels and poor outcome following severe traumatic brain injury. *J Neurosurg.*, 2005, 103, s. 233-238.
18. Hejčl, A., Bolcha, M., Procházka, J., Hušková, E., Sameš, M. Elevated intracranial pressure, low cerebral perfusion pressure, and impaired brain metabolism cor-

- relate with fatal outcome after severe brain injury. *J Neurol. Surg. A Cent. Eur. Neurosurg.*, 2012; 73, s. 10-17.
19. **Wyss, M., Kaddurah-Daouk, R.** Creatine and creatinine metabolism. *Physiol. Rev.*, 2000, 80, s. 1107-1213.
 20. **Walker, J. B.** Creatine: biosynthesis, regulation, and function. *Adv Enzymol Relat. Areas Mol. Biol.*, 1979, 50, s. 177-242.
 21. **Defalco, A. J., Davies, R. K.** The synthesis of creatine by the brain of the intact rat. *J Neurochem.*, 1961, 7, s. 308-312.
 22. **Dringen, R., Verleysdonk, S., Hamprecht, B., Willker, W., Leibfritz, D., Brand, A.** Metabolism of glycine in primary astroglial cells: synthesis of creatine, serine, and glutathione. *J Neurochem.*, 1998, 70, s. 835-840.
 23. **Tachikawa, M., Fukaya, M., Terasaki, T., Ohtsuki, S., Watanabe, M.** Distinct cellular expressions of creatine synthetic enzyme GAMT and creatine kinases uCK-Mi and CK-B suggest a novel neuron-glia relationship for brain energy homeostasis. *Eur. J Neurosci.*, 2004, 20, s. 144-160.
 24. **Ohtsuki, S., Tachikawa, M., Takanaga, H., et al.** The blood-brain barrier creatine transporter is a major pathway for supplying creatine to the brain. *J Cereb. Blood Flow Metab.*, 2002, 22, s. 1327-1335.
 25. **Kelbich, P., Slavík, S., Jasanská, J., et al.** Hodnocení energetických poměrů v likvorovém kompartmentu pomocí vyšetřování vybraných parametrů metabolismu glukosy v CSF. *Klin. Biochem. Metab.*, 1998, 6 (27), s. 213-225.
 26. **Kelbich, P., Koudelková, M., Machová, H., et al.** Význam urgentního vyšetření mozkomíšního moku pro včasnou diagnostiku neuroinfekcí. *Klin. Mikrobiol. Infekc. Lek.*, 2007, 13, s. 9-20.
 27. **Kelbich, P., Adam, P., Sobek, O. et al.** Základní vyšetření likvoru v diagnostice postižení centrálního nervového systému. *Neurol pro praxi*, 2009, 10, s. 285-289.
 28. **Kelbich, P., Procházka, J., Sameš, M., et al.** Principy a zvláštnosti neurochirurgické a neurointenzivistické likvorologie (1. část: Úvod do problematiky). *Klin. Biochem. Metab.*, 2011, 19(40), s. 223-228.
 29. **Kelbich, P., Hejčí, A., Procházka, J., Hanuljaková, E., Peruthová, J., Špička, J.** Cytologie a energetika jako důležité atributy vyšetření likvoru. *Klin. Biochem. Metab.*, 2012, 20(41), s. 17-24.

Práce byla podpořena grantem IGA MZČR NT13883/4-2012 a projektem „PRVOUK“ P37/10 Univerzity Karlovy v Praze, Lékařské fakulty v Hradci Králové.

Do redakce došlo 22.10. 2012

Adresa pro korespondenci
MUDr. Aleš Hejčí, Ph.D.
Neurochirurgická klinika Univerzity Jana Evangelisty
Purkyně
Masarykova nemocnice
Sociální péče 12A
401 13 Ústí nad Labem
e-mail: ales.hejci@gmail.com

Stanovení sérových markerů v diferenciální diagnostice časného karcinomu prostaty (pilotní studie)

Fuchsová R.¹, Topolčan O.¹, Klečka J.², Vrzalová J.¹, Hora M.², Kučera R.¹, Dolejšová O.², Hes O.³

¹Laboratoř imunochemické diagnostiky, FN a LF v Plzni, Univerzita Karlova v Praze

²Urologická klinika, Fakultní nemocnice v Plzni

³Šiklův patologicko-anatomický ústav, FN a LF v Plzni, Univerzita Karlova v Praze

SOUHRN

Cíl studie: Sledování sérových hladin markerů karcinomu prostaty PSA, %freePSA, [-2]proPSA a výpočet PHI v časně diagnostice karcinomu prostaty.

Typ studie: Pilotní studie

Materiál a metody: V imunoanalytické laboratoři Fakultní nemocnice Plzeň (FN) byla vyšetřena séra 76 pacientů Urologické kliniky FN s podezřením na karcinom prostaty a indikovaných k biopsii prostaty pod ultrasonografickou kontrolou (TRUS). U všech pacientů byla stanovena hladina celkového PSA, a pokud byla mezi 0 – 30 µg/l, bylo doplněno stanovení hladin freePSA, [-2]proPSA, vypočítán poměr %freePSA a Prostate Health Index (PHI). Stanovení sledovaných biomarkerů se prováděla chemiluminiscenční metodou na přístroji Dxl 800 (Beckman Coulter, USA). Pro veškeré statistické výpočty byl použit statistický software SAS verze 9.2.

Výsledky: Nalezli jsme statisticky signifikantně zvýšené hladiny [-2]proPSA a PHI u pacientů s histologicky potvrzeným karcinomem prostaty oproti pacientům s benigní hyperplazií prostaty ([-2]proPSA medián 14 vs. 27 ng/l, PHI medián 35 vs. 77). Naopak u celkového PSA a %freePSA jsme statisticky významné rozdíly v hladinách nenalezli (mediány tPSA 7,1 vs. 7,7 µg/l a %freePSA 16 vs. 11,4 %).

Závěr: Pro zpřesnění diferenciální diagnostiky benigní hyperplazie se zdá být stanovení [-2]proPSA a vypočtení indexu PHI velkým přínosem.

Klíčová slova: PSA, [-2]proPSA, PHI, index zdravé prostaty, karcinom prostaty, biopsie, benigní hyperplazie prostaty.

SUMMARY

Fuchsová R., Topolčan O., Klečka J., Vrzalová J., Hora M., Kučera R., Dolejšová O., Hes O.: Changes in serum levels of markers in early detection of prostate cancer (pilot study)

Objective: Monitoring changes in the levels of biomarkers PSA, %fPSA, [-2]proPSA and calculation of PHI in the diagnostic algorithm of early prostate cancer.

Design: Pilot study

Material and Methods: The Immunoanalytical Laboratory of University Hospital in Pilsen examined sera of 76 patients from the Urology department of the University Hospital with suspected prostate cancer who have undergone TRUS biopsy. We assessed the levels of PSA and, if the interval of PSA was between 0-30 µg/l, we also assessed the levels of freePSA, [-2]proPSA and we calculated %fPSA and Prostate Health Index (PHI). The monitored biomarkers were measured using the chemiluminescent Dxl 800 instrument (Beckman Coulter, USA). All statistical analyses were calculated using the SAS version 9.2 software.

Results: We found statistically significant increased levels of [-2]proPSA and PHI in patients diagnosed with prostate cancer by prostate biopsy vs. patients with benign prostate hypertrophy ([-2]proPSA median 14 vs. 27 ng/l, PHI median 35 vs. 77). On the contrary, we did not find any significant difference in tPSA and %freePSA (median tPSA 7.1 vs. 7.7 µg/l and %freePSA 16 vs. 11.4%).

Conclusion: The assessment of [-2]proPSA and the calculation of PHI appear to be of great benefit for a more accurate differential diagnosis of benign hyperplasia.

Key words: PSA, fPSA, [-2]proPSA, PHI, prostate health index, prostate cancer, biopsy, benign prostate hypertrophy

Úvod

V současné době existují dva důvody, proč se prakticky přestal provádět celoplošný screening karcinomu prostaty pomocí PSA. Prvním důvodem je, že na sjezdu Americké onkologické společnosti v roce 2011 (ASCO 2011) bylo konstatováno, že pomocí PSA a fPSA nelze odhadnout agresivitu nádorového procesu, a dochází tím ke zbytečnému zahájení léčby i v případech, kde není vůbec indikována (overttherapy). Druhým důvodem

je jeho nízká specifita. Tu sice zlepšuje kombinování s % fPSA (nejčastěji používané v České republice) nebo v zahraničí často používanou rychlostí a densitou PSA nebo využití na věk adjustovaných referenčních hodnot [1, 2]. Nízká specifita PSA vede k nadměrnému počtu biopsií prostaty – čili k „over diagnostice“ [3]. Hledají se neustále nové markery pro zpřesnění diferenciální diagnostiky [4]. V naší pilotní studii jsme se snažili zjistit, zda stanovení [-2]proPSA (isoformy volného PSA) je schopno pomoci řešit problém „over diagnostiky“.

Materiál a metody

V období od listopadu 2010 do dubna 2012 bylo v imunoanalytické laboratoři FN Plzeň vyšetřeno 76 sér pacientů urologické kliniky s podezřením na karcinom prostaty, u nichž byla provedena TRUS biopsie. Krev byla odebírána z kubitální žíly do odběrových zkumavek VACUETTE®, (Greiner Bio-One, Rakousko). Sérum bylo odděleno centrifugací při $1\,700 \times g$ po dobu 10 minut a vzorky byly buď okamžitě zpracovány, nebo – pokud je nebylo možno zpracovat do 3 hodin – byly uchovávány až do doby stanovení při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. U všech nemocných bylo vyšetřeno celkové PSA (tPSA), a pokud bylo v rozmezí $0\text{--}30\text{ }\mu\text{g/l}$, bylo doplněno o vyšetření freePSA (fPSA) a [-2]proPSA. Měli jsme ve všech případech k dispozici výsledek palpačního vyšetření prostaty, sonografii a objem prostaty, výsledek biopsie prostaty a byla známa medikace před a v době odběru krevního vzorku, tedy obdobně jako v podobných zahraničních pracích [5,6]. Všechny výše uvedené markery byly stanoveny chemiluminiscenční metodou na přístroji Dxl 800 (Beckman Coulter, USA) a vypočteny %freePSA podle vzorce $(\text{freePSA}/\text{tPSA}) \times 100$ a index $\text{PHI} = ([-2]\text{proPSA} / \text{freePSA}) \times \sqrt{\text{tPSA}}$. Hodnoty CV se pohybovaly pro [-2]proPSA v rozmezí 3,9–5,6 %, fPSA 6,8–9,9 % a tPSA 6,9–7,5 % (podle použité kontrolní hladiny).

Podle výsledků biopsie prostaty byli nemocní rozděleni do dvou skupin, a to na 50 nemocných s benigní hypertrofií prostaty (negative) a 26 nemocných s karcinomem prostaty (positive). Průměrný věk byl 68 let (49 – 82 let). Za použití statistického softwaru SAS verze 9.2. byla provedena deskriptivní analýza, a vzhledem k nerovnoměrnému počtu pacientů v obou skupinách byla namísto standardního t-testu použita metoda generalizovaných lineárních modelů (GLM) pro porovnání dvou skupin s testovou statistikou F. V box-whisker plotech jsou uváděny hodnoty testové statistiky F a příslušné p-hodnoty (v grafech uváděné jako Prob > F).

Výsledky

Grafy s boxploty stanovovaných markerů pro skupiny benigní a maligní tPSA (obr. 1), [-2]proPSA (obr. 2), %freePSA (obr. 3) a PHI (obr. 4):

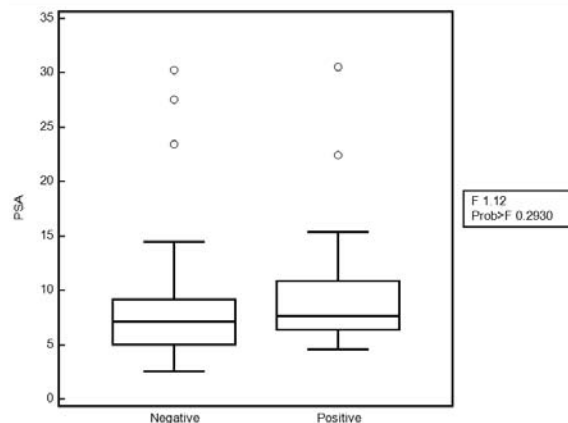


Fig. 1. Boxplot for tPSA ($\mu\text{g/l}$) benign and malignant group

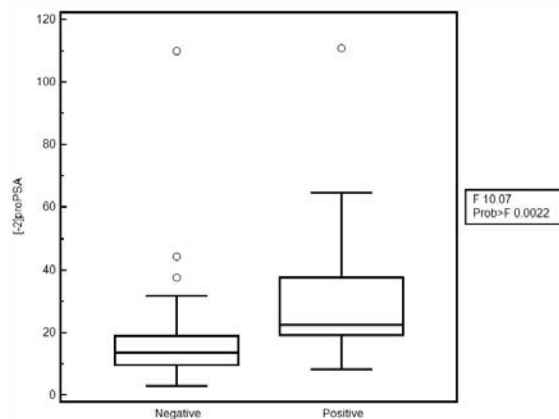


Fig. 2. Boxplot for [-2]proPSA (ng/l) benign and malignant group

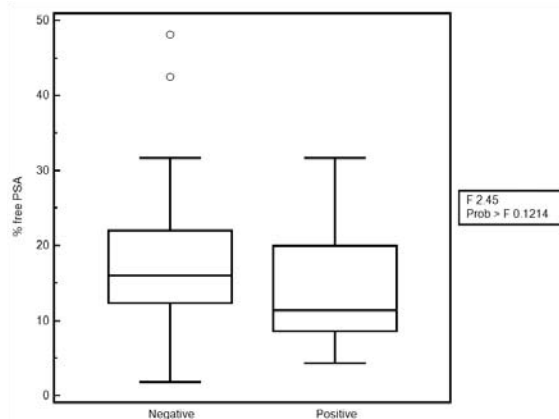


Fig. 3. Boxplot for %freePSA ($\mu\text{g/l}$) benign and malignant group

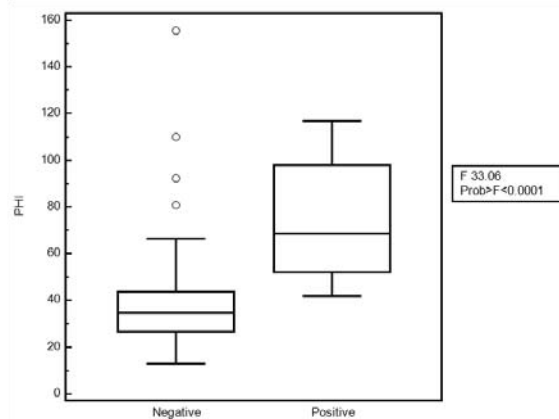


Fig. 4. Boxplot for PHI benign and malignant group

Z grafů vyplývá, že jsme našli signifikantní rozdíly mezi skupinami benigních lézí (negative) a maligních lézí (positive) hladin isoenzymu [-2]proPSA a indexu PHI ([-2]proPSA medián 14 vs. 27 ng/l , $p > 0,0022$, PHI medián 35 vs. 77 $p > 0,0001$), a naopak nebyly přítomny signifikantní rozdíly mezi hladinami tPSA a %freePSA (medián tPSA 7,1 vs. 7,7 $\mu\text{g/l}$ a %freePSA 16 vs. 11,4 %).

Diskuze

Zahraníční autoři do svých souborů zahrnuli pacienty s celkovým PSA $4\text{--}10\text{ }\mu\text{g/l}$, která je považována za oblast hraničních hodnot (šedé zóny) tPSA [7]. Nás

ale zajímalo, zda by bylo možné zabránit opakovaně negativním biopsiím u pacientů s tPSA i nad 10 µg/l. Na základě zkušeností z běžné urologické praxe, kdy i u pacientů s tPSA mezi 10 a 30 µg/l existují pacienti s opakovanými negativními biopsiemi, jsme se rozhodli provádět stanovení [-2]proPSA u všech nemocných s celkovým PSA do 30 µg/l. Ve skupině benigních lézí mělo 9 pacientů z padesáti tPSA nad 10 µg/l, a dokonce 3 pacienti nad 20 µg/l.

Naše zjištění nesignifikantních rozdílů v hladinách celkového PSA a %fPSA mezi benigní a maligní skupinou podporují klinickou zkušenost, že tyto markery nepostačují pro svou nízkou specifitu k diferenciální diagnostice mezi BHP a CA prostaty. Provedli jsme tedy analýzu našich pacientů podle standardně vyšetřovaných parametrů (tPSA a %freePSA) versus PHI a hodnotili, zda [-2]proPSA umožní zabránit provedení biopsií. Použili jsme cut-off pro %freePSA hodnotu 20% (nad 20 = benigní léze) a cut-off pro PHI 40 (nad 40 = maligní léze).

Table 1: Analysis of result of biopsy according to positivity of markers

Levels of tPSA	Number of biopsies	Number of negatives biopsies in group of %freePSA	Number of negatives biopsies in group of pathologic PHI
2-4 µg/l	3	2	1
4-10 µg/l	56	26	8
10-30 µg/l	17	6	5
Total	76	34	14

Z Tabulky 1 vyplývá, že celkem 34 biopsií (tj. 45 %) ze skupiny indikované na základě patologických hodnot %fPSA bylo negativních, a přitom negativních biopsií na základě patologického PHI by bylo pouze 14 (tj. 18 %). Zde je třeba vzít také v úvahu, že obecně udávaný počet falešně negativních prvních biopsií je kolem 25 % [8].

Table 2: Summary of number of patients with positive biopsies with the negativity of the marker (%fPSA and PHI)

Levels of tPSA	Number of biopsies	Number of missed CaP in group of negative %freePSA	Number of missed CaP in group of negative PHI
2-4 µg/l	3	0	0
4-10 µg/l	56	4	0
10-30 µg/l	17	3	0
Total	76	7	0

Pokud by se urolog rozhodoval o biopsii na základě standardně prováděné kombinace markerů (tPSA a %free PSA), pak u celkem 7 karcinomů (Tabulka 2) se %freePSA pohybovalo v rozmezí referenčního intervalu (20 až 32 %), a naopak všechny diagnostikované karcinomy měly hodnotu PHI nad 40.

Ve srovnání s literaturou, kde autoři uvádějí zpřesnění indikace k biopsii prostřednictvím výpočtu %freePSA [9, 10], pak v našem souboru přispívá tento výpočet jen velmi omezeně. Silná statistická významnost absolutních hodnot indexu PHI i samotného [-2]proPSA potvrzují, že tyto markery by mohly velmi výrazně pomoci urologovi v jeho rozhodování o provedení biopsie, případně rebiopsie. Toto se ukázalo při úvahách o eventuálních nadbytečných biopsiích. Zabránění provádění zbytečných biopsií by mělo dopady zcela jistě nejen zdravotnické a psychologické, ale nepochybně i ekonomické. Náklady na diagnostiku pomocí těchto markerů představují částku cca 700 Kč, naproti tomu náklady na provedení jedné biopsie dosahují výše cca 5 000 Kč.

Závěr

Naše výsledky svědčí o tom, že stanovení [-2]proPSA a výpočet indexu PHI umožňuje zvýšit spolehlivost diferenciální diagnostiky karcinomu prostaty a současně, pokud ověříme naše pilotní zkušenosti na rozsáhlejší studii, povede ke snížení počtu prováděných biopsií.

Literatura

1. **Shariat, S. F., et al.** Tumor Markers in Prostate Cancer I: Blood-Based Markers. *Acta Oncologica (Stockholm, Sweden)*, 2011, vol. 50 Suppl 1, s. 61-75, ISSN 1651-226X, 0284-186X.
2. **Makarov, D. V., et al.** Biomarkers for Prostate Cancer. *Annual Review of Medicine*, 2009, vol. 60, s. 139-151, ISSN 1545-326X, 0066-4219.
3. **Heijnsdijk, E. A., et al.** Overdetection, Overtreatment and Costs in Prostate-Specific Antigen Screening for Prostate Cancer. *British Journal of Cancer*, 2009, vol. 101, no. 11, s. 1833-1838, ISSN 1532-1827, 0007-0920.
4. **Klečka, J. et al.** Nádorové markery karcinomu prostaty. *Ces. Urol.*, 2008, 12(3), s. 173-185.
5. **Catalona, W. J., et al.** A Multicenter Study of [-2]Prostate Specific Antigen Combined with Prostate Specific Antigen and Free Prostate Specific Antigen for Prostate Cancer Detection in the 2.0 to 10.0 ng/ml Prostate Specific Antigen Range. *The Journal of Urology*, 2011, vol. 185, no. 5, s. 1650-1655, ISSN 1527-3792, 0022-5347.
6. **Sokoll, L. J., et al.** A Prospective, Multicenter, National Cancer Institute Early Detection Research Network Study of [-2]proPSA: Improving Prostate Cancer Detection and Correlating with Cancer Aggressiveness. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 2010, vol. 19, no. 5, s. 1193-1200, ISSN 1538-7755, 1055-9965.
7. **Khan, M. A., et al.** Evaluation of Prostate Specific Antigen for Early Detection of Prostate Cancer in Men with a Total Prostate Specific Antigen Range of 4.0 to 10.0 ng/ml. *The Journal of Urology*, 2003, vol. 170, no. 3, s. 723-726, ISSN 0022-5347, 0022-5347.
8. **Roehl, K. A.; Antenor, J. A.; Catalona, W. J.** Serial Biopsy Results in Prostate Cancer Screening Study. *The Journal of Urology*, 2002, vol. 167, no. 6, s. 2435-2439, ISSN 0022-5347, 0022-5347.

9. **Catalona, W. J., et al.** Use of the Percentage of Free Prostate-Specific Antigen to Enhance Differentiation of Prostate Cancer from Benign Prostatic Disease: A Prospective Multicenter Clinical Trial. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 1998, vol. 279, no. 19, s. 1542-1547, ISSN 0098-7484, 0098-7484.
10. **Mikolajczyk, S. D., et al.** Free Prostate-Specific Antigen in Serum is Becoming More Complex. *Urology*, 2002, vol. 59, no. 6, s. 797-802, ISSN 1527-9995, 0090-4295.

Tato studie byla podpořena z projektu Ministerstva zdravotnictví České republiky Institucionální podpora na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace 00669806 – FN Plzeň.

Do redakce došlo 22. 11. 2012

*Adresa pro korespondenci:
MUDr. Radka Fuchsová
FN Plzeň
Laboratoř imunochemické diagnostiky,
Oddělení nukleární medicíny
Dr. E. Beneše 13
305 99 Plzeň
e-mail: fuchsovar@fnplzen.cz*

The prevalence of decreased glomerular filtration rate in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance.

Šálek T.¹, Moravčíková D.², Humpolíček P.³, Tichý M.⁴, Palička V.⁴

¹Department of Clinical Biochemistry, Tomas Bata Regional Hospital in Zlín a. s., Havlíčkovo nábřeží 600, 762 75 Zlín

²Faculty of Humanities, Institute of Health Care Studies, Degree Programme Midwifery, Tomas Bata University in Zlín, Mostní 5139, 760 01 Zlín

³Centre of Polymer Systems, Polymer Centre, Tomas Bata University in Zlín, T. G. Masaryka Sq. 5555, 760 01 Zlín

⁴Institute of Clinical Biochemistry and diagnostics, Faculty of Medicine in Hradec Králové and University Hospital, 500 05 Hradec Králové

SUMMARY

Background: Renal function is more frequently decreased in patients with monoclonal gammopathy. 10% of patients with multiple myeloma present with acute renal failure and renal function is included in CRAB criteria for the diagnosis of multiple myeloma.

Aim: The aim of this study is to determine the prevalence of chronic renal failure (CRF), defined as a glomerular filtration rate (GFR) below 1.0 ml/s/1.73m², in 101 patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS).

Design: retrospective study

Material and methods: We compared GFR estimates from serum creatinine (MDRD GFR) and serum cystatin C (CysC GFR) and looked at the correlation between free light chains (FLC) concentration and renal markers. We performed serum protein electrophoresis (SPE) with quantification of monoclonal intact immunoglobulin (MIg) and measured serum creatinine, cystatin C, κ and λ FLC and β 2microglobulin in all patients.

Results: We found CRF in 38.6% patients using estimation from serum cystatin C and 34.6% using estimation from serum creatinine. B2microglobulin has the highest number of significant correlations; cystatin C (0.90), CysC GFR (-0.69), creatinine (0.70), MDRD GFR (-0.60), MIg concentration (0.24), κ FLC (0.22) λ FLC (0.34) and age (0.40). The best correlation results may be explained by the fact that β 2microglobulin reflects both malignant cells burden and renal function.

Conclusions: We found CRF in 38.6% MGUS patients using estimation from serum cystatin C and in 34.6% using estimation from serum creatinine. The class of monoclonal immunoglobulin may influence results of glomerular filtration estimated from cystatin C but it does not influence GFR estimated from creatinine. Diabetic patients had not significantly lower GFR than patients without diabetes mellitus.

Key words: chronic renal failure, glomerular filtration rate, monoclonal gammopathy, free light chains

SOUHRN

Šálek T., Moravčíková D., Humpolíček P., Tichý M., Palička V.: Prevalence míry snížení glomerulární filtrace u pacientů s monoklonální gamapatií neurčeného významu.

Cíl: Cílem studie je stanovit prevalenci chronického selhání ledvin u 101 pacientů s monoklonální gamapatií neurčeného významu (MGUS).

Typ studie: retrospektivní studie.

Materiál a metody: Porovnali jsme glomerulární filtraci odhadovanou ze sérového kreatininu a cystatinu C a hodnotili jsme korelaci mezi koncentrací volných lehkých řetězců v séru a funkcí ledvin. U všech pacientů jsme provedli elektroforézu proteinů séra s denzitometrickou kvantifikací monoklonálního imunoglobulinu a změřili jsme koncentraci kreatininu, cystatinu C, volných lehkých řetězců kappu a lambda, β 2 mikroglobulinu.

Výsledky: Chronické selhání ledvin jsme našli u 38,6% pacientů na základě odhadu ze sérového cystatinu C a u 34,6% pacientů na základě odhadu ze sérového kreatininu. B2mikroglobulin má největší počet významných korelací; cystatin C (0,90), CysC GFR (-0,69), Kreatinin (0,70), MDRD GFR (-0,60), MIg koncentrace (0,24), κ FLC (0,22) λ FLC (0,34) a věk (0,40). Tento velký počet korelací lze vysvětlit tím, že β 2mikroglobulin odráží jak zátěž organismu maligními buňkami, tak pokles glomerulární filtrace.

Závěr: Chronické selhání ledvin jsme našli u 38,6% pacientů při odhadu glomerulární filtrace z cystatinu C a u 34,6% při odhadu ze sérového kreatininu. Třída monoklonálního imunoglobulinu může mít vliv na výsledky odhadu glomerulární filtrace ze sérového cystatinu C, odhad glomerulární filtrace ze sérového kreatininu není ovlivněn třídou imunoglobulinu. Diabetici neměli statisticky významně nižší glomerulární filtraci než pacienti bez diabetu mellitu.

Klíčová slova: chronické selhání ledvin, glomerulární filtrace, monoklonální gamapatie, volné lehké řetězce

Introduction

CRF is a very important medical, social and economic issue. One patient out of nine suffers from this condition. The current definition was established by National Kidney Foundation in 2002. The presence of CRF is defined as decreased level of GFR below 1.0 ml/s/1,73m² with or without kidney damage for more than 3 months. Markers of kidney damage are pathological findings in urine (usually increased proteinuria or albuminuria), blood or pathological findings in imaging studies [1]. Five stages are defined according to the level of GFR [1]. Czech society for clinical biochemistry adopted the same staging system in its recommendation on determination of GFR. The most commonly used method to measure renal function is GFR [2]. The most frequently used substances to determine GFR are serum or plasma creatinine and cystatin C. MDRD equation and Grubb equation are recommended to estimate GFR [2]. Creatinine is not an ideal marker of renal function. It is influenced by factors such as age, gender, muscle mass and physical activity [3, 18], race, catabolic or anabolic state [3, 18] and is insensitive to small decreases in GFR [2]. Serum creatinine is an unreliable indicator in the elderly whose muscle mass has been reduced and therefore their results must be interpreted carefully [5]. Substances with low molecular weight such as cystatin C (13.3kDa) or β 2microglobulin (11.8 kDa) appear to be better indicators of GFR [4, 18]. Cystatin C, a cysteine protease inhibitor [2, 18], is a relatively new marker of establishing GFR [6, 18]. It seems to be better than creatinine because its concentration in serum is independent of muscle mass. It is unlikely to be influenced by age or gender [7] and it is easily filtered by the glomerulus [6, 8]. However, cystatin C can be influenced by extra renal factors such as corticosteroid administration and thyroid dysfunction [7, 9, 18]. The current reference method for determination of GFR is a DTPA isotope method. This method is invasive, time consuming and available only in specialised centres [10].

Major risk factors for chronic renal failure include diabetes mellitus, hypertension, atherosclerosis and family history of renal disease [1, 11]. Monoclonal gammopathies may also cause renal damage [12, 16]. Renal insufficiency is defined as serum creatinine levels > 177 μ mol/l as part of the CRAB criteria for diagnosis of multiple myeloma described by the International Myeloma Working group in 2003 [13].

[C] Calcium elevation in the blood S. Calcium >2.75 mmol/l

[R] Renal insufficiency S. Creatinine > 177 μ mol/l

[A] Anemia Hemoglobin < 100 g/l or 20g/l < normal

[B] Lytic bone lesions or osteoporosis

MGUS is an asymptomatic pre-malignant disorder introduced in 1978 by Dr. Robert A. Kyle and characterized by clonal proliferation of plasma cells. The etiology of this disease is unknown, but it is related to genetic predisposition and the environmental factors [14, 15]. MGUS is frequently presented as an idiopathic rearrangement of immunoglobulin genes, which cau-

ses production of an M-protein [15] and when accompanied by production of monoclonal FLC can cause kidney disease [16]. In the kidney nephron, FLC pass through fenestrated epithelia of the glomerular wall and when their quantity overwhelms the renal reabsorption capacity, they cause nephrotoxicity, such as the formation of waxy casts. Production of monoclonal FLC and abnormal κ/λ ratio predict the development of MGUS to further stages [17, 20].

Materials and methods

This study included 101 consecutive patients with MGUS from Thomas Bata Regional Hospital in Zlín from January 2009 to June 2011. This group consisted of 35 Caucasian men and 66 Caucasian women, with age ranged from 43 to 95 years. We have created 3 age groups: 40 – 59 years, 60 – 79 years and 80 – 99 years. 32 patients suffered from diabetes mellitus. All patients had an intact monoclonal immunoglobulin molecule; we did not include Light Chain only MGUS in our patient cohort. We retrospectively evaluated patients for the presence of CRF. The CRF is defined according to National Kidney Foundation as GFR below 1.0 ml/s/1,73m² with or without kidney damage. It includes stage 3, stage 4 a stage 5 according to the level of GFR. It is not a particular clinical diagnose, it is the level of GFR. We originally planned to assess proteinuria, as a marker of kidney damage, but did not have urine samples from large proportion of the patients. Fasting blood samples were collected during routine medical check-up. We compared two methods of GFR estimation. The first one was estimation from serum cystatin C (CysC GFR). Cystatin C was measured by an immunoturbidimetric technique using DAKO calibration on an Abbott Architect analyser. CysC GFR was calculated by Grubb equation: CysC GFR= 1.4115 x cystatin C (mg/L)^{-1.680}, (multiplied by 0.948 in females). The second one was an estimation from serum creatinine (MDRD GFR), using a standardized photometric enzymatic method traceable to NIST SRM 967 reference material on an Abbott Architect analyser [18]. Estimation of GFR from serum creatinine was calculated using the four parameter MDRD equation: MDRD GFR = 515.3832 x creatinine^{-1.154} x age^{-0.203}, (multiplied by 0.742 in females) [18,19].

All patients had determined serum levels of β 2microglobulin determined using an immunoassay on the Axsym analyser; the concentration of intact monoclonal immunoglobulin was performed using SPE densitometry and calculation from total protein; κ and λ FLC and their ratios were determined by particle enhanced immunoturbidimetric assays (Freelite; The Binding Site, Birmingham, UK) using an Olympus analyser. We compared GFR in patients with and without diabetes mellitus.

The study has been approved by The Ethical Committee of Tomas Bata Hospital. We were allowed to collect and anonymously report retrospective data of patients. Now we realized that we did not need this ap-

proval for this article. The Spearman correlation coefficient was used to assess correlation between the following parameters: cystatin C, creatinine, monoclonal immunoglobulin concentration, κ and λ FLC, FLC κ/λ ratio, β 2microglobulin, gender and age. The influence of monoclonal immunoglobulin class on markers of GFR was evaluated using a mixed linear model (MLM).

Results and Discussion

The studied population had an average CysC GFR value of 1.23 ± 0.60 ml/s/1.73m² and MDRD GFR of 1.16 ± 0.37 ml/s/1.73m². Results show that GFR estimates from cystatin C were over decision limit (1.0 ml/s/1.73m²) in 62 patients and 39 patients had CRF (stage 3 had 29 patients, stage 4 had 8 patients and stage 5 had 2 patients). GFR estimates from creatinine were over decision limit in 66 patients and 35 patients had CRF (stage 3 had 34 patients, stage 4 had 1 patient, nobody had stage 5). Discrepancies were found in 14 cases. 9 cases had CysC GFR in the range of CRF and MDRD GFR was over decision point 1.0 ml/s/1.73m². 5 patients had CysC GFR over decision limit 1.0 ml/s/1.73m², while MDRD GFR was in the range of CRF. Overall, more than 1/3 of patients had CRF by cystatin C or creatinine.

The Spearman correlation analysis is shown in (Table 1). β 2microglobulin has the highest number of significant correlations: cystatin C (0.90), CysC GFR (-0.69), creatinine (0.70), MDRD GFR (-0.60), MIg concentration (0.24), κ FLC (0.22) λ FLC (0.34) and age (0.40). The best correlation results may be explained by the fact that β 2microglobulin reflects both malignant cells burden and renal function [18]. The higher correlation with cystatin C compared to creati-

nine can be explained by decreased muscle mass in elderly patients [3]. The Spearman coefficient of correlation between κ/λ FLC ratio and CysC GFR and MDRD GFR was approaching zero. We can explain it as the majority of our patients had physiological κ/λ FLC ratio.

MIg concentration has only two significant correlations: κ FLC and β 2microglobulin. Increased serum β 2microglobulin concentration probably reflects higher number of plasma cells in bone marrow [18]. κ/λ FLC ratio was significant only in two cases: with MIg concentration (0.36) and with κ FLC (0.45).

The influence of monoclonal immunoglobulin class on markers of GFR is shown in (Table 2). We can see that CysC GFR shows statistically significant differences between biconal paraproteins and IgA λ . There is an average value 0.92 with standard deviation 0.19 for biconal paraproteins and 1.6 as an average value with standard deviation 0.24 for IgA λ . We can conclude that the class of monoclonal immunoglobulin may influence results of glomerular filtration estimated from cystatin C but it does not influence GFR estimated from creatinine. We do not have explanation for these results. Gender was also evaluated as a factor to influence results of GFR (Table 3). The age-dependent differences in estimated GFR were statistically significant in both types of estimation (CysC GFR or MDRD GFR) (Table 4). There must be relationship between age and estimated GFR because the age is included in these equations [19]. The age dependent GFR decrease is sharper in CysC GFR than in MDRD GFR. This may be explained by more rapid decrease in muscle mass in elderly patients due to chronic diseases associated with aging [3]. Diabetic patients had not significantly lower GFR than patients without diabetes mellitus (Table 5).

Tab. 1: Spearman correlation coefficients between observed parameters

	Cystatin C	cys C GFR	Creatinine	MDRD GFR	MIg concentration	Class of paraprotein	κ FLC	λ FLC	κ/λ	β 2mikro-globulin	Gender	Age
Cystatine C		-0.84*	0.79*	-0.70*	0.19	0.06	0.20*	0.24*	0.03	0.90*	-0.02	0.43*
cys C GFR	-0.84*		-0.66*	0.70*	-0.15	-0.02	-0.22*	-0.20*	-0.08	-0.69*	0.01	-0.47*
Creatinine	0.79*	-0.66*		-0.83*	0.10	-0.02	0.23*	0.17	0.04	0.70*	-0.23*	0.32*
MDRD GFR	-0.70*	0.70*	-0.83*		-0.10	-0.03	-0.15	-0.11	-0.03	-0.60*	-0.20*	-0.36*
MIg concentration	0.19	-0.15	0.10	-0.10		0.02	0.25*	0.12	0.36*	0.24*	0.05	0.08
Class of paraprotein	0.06	-0.02	-0.02	-0.03	0.02		-0.18	-0.02	-0.07	-0.02	0.13	0.10
κ FLC	0.20*	-0.22*	0.23*	-0.15	0.25*	-0.18		0.24*	0.45*	0.22*	-0.23*	0.12
λ FLC	0.24*	-0.20*	0.17	-0.11	0.12	-0.02	0.24*		-0.15	0.34*	0.01	0.06
κ/λ	0.03	-0.08	0.04	-0.03	0.36*	-0.07	0.45*	-0.15		-0.02	-0.12	0.08
β 2mikroglobulin	0.90*	-0.69*	0.70*	-0.60*	0.24*	-0.02	0.22*	0.34*	-0.02		-0.01	0.40*
Gender	-0.02	0.01	-0.23*	-0.20*	0.05	0.13	-0.23*	0.01	-0.12	-0.01		-0.05
Age	0.43*	-0.47*	0.32*	-0.36*	0.08	0.10	0.12	0.06	0.08	0.40*	-0.05	

Note: Marked correlation are significant on level of probability $P \leq 0.05$ (*)

Tab. 2: Differences between classes of paraprotein by GFR (LSM ± SD)

	Biclonal	IgA κ	IgA λ	IgG κ	IgG λ	IgM κ	IgM λ
Cys C GFR ml/s/1,73m ²	0.92 ± 0.19 a	1.30 ± 0.20	1.60 ± 0.24b,*	1.22 ± 0.1	1.13 ± 0.11**	1.20 ± 0.19	1.43 ± 0.32
MDRD GFR ml/s/1,73m ²	1.06 ± 0.12	1.15 ± 0.13	1.25 ± 0.16	1.17 ± 0.06	1.15 ± 0.07	1.12 ± 0.12	1.29 ± 0.21

Note: Values with different superscripts show significance level within rows: P ≤ 0.05 (a/b); P ≤ 0.1 (**)

Tab. 3: Differences in gender by GFR (LSM ± SD)

	Male	Female
CysC GFR ml/s/1,73m ²	1.27 ± 0.11	1.24 ± 0.09
MDRD GFR ml/s/1,73m ²	1.26 ± 0.07 a	1.08 ± 0.06 b

Note: Values with different superscripts show significance level within row P ≤ 0.05 (a/b)

Conclusions

We have found CRF in 38.6% patients using GFR estimation from cystatin C and in 34.6% patients using GFR estimation from creatinine. B2microglobulin has the highest number of significant correlations: cystatin C (0.90), CysC GFR (-0.69), Creatinine (0.70), MDRD GFR (-0.60), Mlg concentration (0.24), κ FLC (0.22) λ FLC (0.34) and age (0.40). The best correlation results may be explained by the fact that β2microglobulin reflects both malignant cells burden and renal function. The class of monoclonal immunoglobulin may influence results of GFR estimated from cystatin C but it does not influence GFR estimated from creatinine. We do not have explanation for these results. Diabetic patients had not significantly lower GFR than patients without diabetes mellitus. Further studies are needed to evaluate which parameter of GFR is most suitable and practical for patients with monoclonal gammopathies, and to evaluate treatment options for patients with elevated FLC.

References

1. **Levey, S., Coresh, J., Balk, E. et al.** National Kidney Foundation practice guidelines for chronic renal failure: evaluation, classification and stratification. *Ann Intern Med.*, 2003, vol. 139, s. 137-147.
2. **Zima, T., Teplan, V., Tesař, V. et al.** Doporučení České nefrologické společnosti a České společnosti klinické biochemie ČLS JEP k vyšetřování glomerulární filtrace. *Klin. Biochem. Metab.*, 2009, č. 2, s. 109-117.
3. **Larson, A., Flodin, M., Hanson, L. O., Carlsson, L.** Patient selection has a strong impact on cystatin C and Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) estimated glomerular filtration rate. *Clinical Biochemistry*, 2008, vol. 41, s. 1355 – 1361.
4. **Donadio, C., Lucchesi, A., Ardini, M., Giordani, R.** cystatin C, β2microglobulin, and retinol-binding protein as indicators of glomerular filtration rate: comparison with plasma creatinine. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 2001, vol. 24, s. 835-42.
5. **Hsu, C. Y., Chertow, G. M., Curhan, G. C.** Methodological issues in studying the epidemiology of mild to moderate chronic renal insufficiency. *Kidney Int.*, 2002, vol. 61, s. 1567 – 1576.
6. **Narvaez-Sanchez, R., Gonzales, L., Salamanca, A., Silva, M., Rios, D. et al.** cystatin C could be a replacement to serum creatinine for diagnosing and monitoring kidney function in children. *Clinical Biochemistry*, 2008, vol. 41(7-8), s. 498-503.
7. **Daniel, K. M., Cason, C. L.** Estimating Glomerular Filtration Rate in the Elderly. *The Journal for Nurse Practitioners – JNP*, 2007 (3), 4, s. 242-244.
8. **Newman, D. J., Thakkar, H., Edwards, R. G., Wilkie, M., White, T. et al.** Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of ganges in GFR than serum creatinine. *Kidney Int.*, 1995, vol. 47, s. 312 – 318.
9. **Chen, H. H.** Is cystatin C an Important Prognostic Marker Independent of Renal Function. *JACC*, 2010, vol. 56, s. 1937 – 1938.
10. **Vižďa, J., Lepej, J., Křížková, H., Urbanová, E.** *Atlas scintigrafie ledvin*. Praha: Agentura Pankrác spol. s.r.o. 2002, s. 5-10.
11. **Schoolwerth, A. C., Eengelgau, M. M., Hostetter, T. H. et al.** Chronic kidney disease: a public health problem that needs a public health action plan. *Prev Chronic Dis.*, 2006, vol. 3, s. A57.
12. **Bradwell, A. R.** *Serum free light chain analysis fourth edition*. U.S.A. Binding Site Inc: SanDieg, Ca 92121, s.173-182.
13. **The international myeloma working group.** Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J. Haematol.*, 2003, vol. 121, s. 749-757.
14. **Madan, S., Greipp, P. R.** The incidental monoclonal protein: Current approach to management of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS). *Blood Rev.*, 2009, vol. 23, s. 257 – 265.
15. **Munshi, N. C.** Monoclonal gammopathy of undetermined significance. genetic vs. environmental etiologies. *Mayo Clin Proc.*, 2007, vol. 82, s. 1457 – 1459.
16. **Hutchison, C. A., Basnayake, K., Cockwell, P.** Serum free light chain assessment in monoclonal gammopathy and kidney disease. *Nat. Rev. Nephrol.*, 2009, vol. 5, s. 621 – 627.

17. **Ščudla, V., Schneiderka, P., Pika, T.** Clinical importance of evaluating serum levels of free light chains of immunoglobulins in monoclonal gammopathies. *Klin. Biochem. Metab.*, 2008, č. 2, s. 76–83.
18. **Delanghe, J. R.** GFR – Where are we now? *New trends in classification, diagnosis and management of renal diseases*. Zagreb: Medicinska naklada 2008, s. 63 – 67.
19. **Levey, S., Coresh, J., Greene, T., Marsh, J., Stevens, L. A. et al.** Expressing the Modification of Diet in Renal Disease Study Equation for Estimating Glomerular Filtration Rate with Standardized Serum Creatinine Values. *Clin. Chem.*, 2007, vol. 53, s. 766 – 772.
20. **Rajkumar, S. V., Kyle, R. A., Therneau, T. M., Melton, L. J. RD, Bradwell A. R., et al.** Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*, 2005, vol. 106, s. 812 – 817.

Do redakce došlo 11. 5. 2012

Adresa pro korespondenci
MUDr. Tomáš Šálek
Záhumení 789
687 22 Ostrožská Nová Ves
e-mail: tsalek@seznam.cz

XI.

celostátní sjezd ČESKÉ SPOLEČNOSTI KLINICKÉ BIOCHEMIE s mezinárodní účastí



Olomouc, 22. - 24. září 2013



PLENÁRNÍ PŘEDNÁŠKY

- Prof. RNDr. Miloš Tichý, CSc. - *Monoklonální imunoglobuliny (paraproteiny)*
- Gleen E. Palomaki, Ph.D. - *DNA testing of maternal plasma to screen for Down syndrome and other aneuploidies*
- Prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D. - *Úloha laboratorní medicíny v komplexní léčbě nádorových onemocnění*

ODBORNÁ TÉMATA

- Biochemie v pediatrii a geriatii
- Současnost a budoucnost prenatálních screeningových programů
- Nové techniky v klinicko-biochemické laboratoři
- Genomické testování v diagnostice a léčbě: přínosy a problémy
- Nové biomarkery pro klinické použití, ateroskleróza - „neklasické“ markery
- Minimalizace dopadu mimolaboratorních chyb na pacientovu bezpečnost
- Kazuistiky

ORGANIZAČNÍ SEKRETARIÁT

Congress Business Travel, spol. s r. o.
Lidická 43/66, 150 00 Praha 5
Tel. 224 924 575, 224 942 579
Email: sjezdcskb2013@cbttravel.cz



www.sjezdcskb2013.cz

Nové regulační hormony mateřského mléka

Bronský J., Mitrová K.

Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

SOUHRN

Nahlížení na tukovou tkáň pouze jako na úložiště energie je již minulostí. Tukovou tkáň lze považovat za samostatný endokrinní orgán, kterého buňky - adipocyty - produkují řadu hormonálně aktivních látek ovlivňujících nutriční stav jedince. Regulační hormony nutričního stavu (adiponektin, leptin, ghrelin, IgF-1, rezistin, obestatin) jsou předmětem intenzivního výzkumu a řada z nich byla identifikována i v mateřském mléce (MM) člověka. Z dlouhodobého hlediska se tyto hormony mohou podílet na programování regulace energetické rovnováhy u dětí a následné kontroly tělesné hmotnosti v dospělosti. Předpokládá se, že kojení může ovlivnit vývoj neuroendokrinních drah podílejících se na regulaci nutričního stavu. Regulační hormony v MM mohou být jedním z mechanismů, kterými je zprostředkován protektivní efekt kojení na rozvoj obezity v dospělosti. Současná úroveň znalostí o skutečném klinickém významu těchto hormonů MM pro vývoj kojence je nízká. Následující text přináší přehled dosavadních poznatků.

Klíčová slova: nutriční stav, mateřské mléko, adipocyty, regulační hormony

SUMMARY

Bronský J., Mitrová K.: New regulation hormones of the breast milk

Consideration of adipose tissue exclusively as an energy store is a thing of the past. Adipose tissue can be considered a separate endocrine organ, with adipocytes producing a number of hormonally active substances affecting the nutritional status of individuals. Regulatory hormones of nutritional status (adiponectin, leptin, ghrelin, IGF-1, resistin, obestatin) are the subject of intense research and many of them have been identified in human breast milk (BM). From a long term point of view, these hormones may be involved in programming of the regulation of energy balance in childhood and subsequent control of body weight in adulthood. It is assumed that breastfeeding may influence the development of neuroendocrine pathways involved in the regulation of nutritional status. Regulatory hormones in BM may be one of the mechanisms that mediate protective effect of breastfeeding on the development of Obesity in adulthood. The current level of knowledge about actual clinical importance of these BM hormones for the development of infants is low. The following article provides an overview of up-to-date knowledge about regulatory hormones of BM.

Key words: nutritional status, breast milk, adipocytes, regulatory hormones

Úvod

Mateřské mléko (MM) je díky svému jedinečnému složení a biologickým vlastnostem pro člověka nenahraditelné. Jednotlivé složky MM významným způsobem ovlivňují růst a vývoj dítěte a hrají významnou roli v regulaci postnatálního zrání a vývoje tkání a orgánových systémů. Význam kojení je v současné době již nezpochybnitelný. Poskytuje řadu výhod jak pro kojence, tak i pro kojící matku. Existují navíc důkazy, že kojení má pozitivní vliv na zdraví jedince i v dospělosti. Nejvýznamnější, vědecky prokázané benefity kojení se týkají prevence vzniku alergií, infekčních či gastrointestinálních onemocnění, stejně tak jako i jeho vlivu na růst a kognitivní funkce dítěte či spojitost s pozdějším výskytem civilizačních onemocnění [1].

Regulační hormony nutričního stavu jsou předmětem intenzivního výzkumu a řada z nich byla identifikována i v MM člověka (Tabulka 1) [2]. Z dlouhodobého hlediska se tyto hormony mohou podílet na programování regulace energetické rovnováhy u dětí a následné kontroly tělesné hmotnosti v dospělosti [3]. Předpokládá se, že kojení může ovlivnit vývoj neuroendokrinních drah podílejících se na regulaci nutričního stavu. Regulační hormony v MM mohou být jedním z mechanismů, kterými je zprostředkován protektivní efekt kojení na

rozvoj obezity a dalších civilizačních onemocnění v dospělosti. Současná úroveň znalostí o skutečném klinickém významu těchto hormonů MM pro vývoj kojence je nízká. Následující text přináší přehled dosavadních poznatků.

Adiponektin

Adiponektin (30 kDa) je predominantní sekretorický protein tukové tkáně. Zajišťuje homeostázu glukózy a lipidů, působí proti řadě rizikových faktorů spojených s obezitou a zvyšuje inzulínovou senzitivitu [4]. Při lézi endotelu se akumuluje ve stěně cév, moduluje endoteliální odpověď na zánět tím, že inhibuje fagocytózu monocytomakrofágových buněk a brání uvolnění adhezivních molekul indukovaných působením TNF-alfa [5].

Strukturálně je adiponektin příbuzný skupině cytokinových molekul. Adiponektin tvoří asi 0,01% celkové sérové bílkoviny. Jeho molekula se skládá z 247 aminokyselinových zbytků, N-terminální doména je podobná kolagenu typu VIII a C-terminální globulární doména vykazuje strukturální podobnost s C1q faktorem komplementu. Adiponektin má v krevním řečišti tendenci tvořit homotrimery a oligomerní struktury vyššího řádu. V séru je možno detekovat i samostatný C-terminální fragment. Adiponektinový gen má označení AMP1 a je umístěn na lokusu 3q27. Tento lokus je podle vědec-

Table 1: New regulatory hormones of breast milk

Hormone	Discovery	Main functions	Discovery in BM	Method	Receptor	Discovery of receptor in bowel
Leptin	1994	Anorexigenic effect	1997	RIA ELISA	Ob-R	Human
Adiponectin	1995	Increase of insuline sensitivity Increase of metabolism of fatty acids Antiinflammatory effect Antiatherogenic effect	2006	RIA ELISA	Adipo R1 Adipo R2	Mouse, Human
Ghrelin	1999	Orexigenic effect Stimulation of secretion of GH Stimulation of gastric secretion and motility	2006	RIA	GHS-1a	Human
IGF-1	1950	Primary mediator of GH effects Regulation of postnatal growth	1984	RIA	IR IGF-IR IGF-IIR	Human
Resistin	2001	Regulation of insulin sensitivity	2008	ELISA	Unknown	Unknown
Obestatin	2005	Anorexigenic effect	2008	RIA	GPR 39	Unknown

Legend: GH = growth hormone; RIA = radioimmunoassay; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay

kých výzkumů asociovaný s predispozicí k diabetes mellitus 2. typu a metabolickému syndromu [6].

Doposud bylo identifikováno několik adiponektinových receptorů [7]. Základními dvěma typy jsou AdipoR1 a AdipoR2, které mají 7 transmembránových domén, ale jsou strukturálně, topologicky i funkčně odlišné od receptorů sdružených s G-proteinem (GPCR). Jejich N terminální doména je intracelulární a C terminální doména extracelulární (narozdíl od GPCR). AdipoR1 se vyskytuje ubikvitně, ale převážně je umístěn na povrchu buněk kosterní svaloviny. Jeho gen je umístěn na lokusu 1p36. AdipoR2 je predominantně exprimován v jaterní tkáni a gen je lokalizován na 12p13. Dalším známým typem receptoru je tzv. T-cadherin, který váže hexamerní a vysokomolekulární formy adiponektinu.

AdipoR1 a AdipoR2 způsobují zvýšení aktivity ligandů AMPK, PPAR-alpha (peroxisome proliferator-activated receptor alpha) a p38 MAPK (mitogen-activated protein kinase, MAPK14). Zvyšují oxidaci mastných kyselin ve tkáních a vychytávání glukózy z krevního řečiště. AdipoR1 a AdipoR2 jsou fylogeneticky vysoce konzervované, lidský AdipoR2 je z 95,2% identický s myším proteinem. AdipoR1 a AdipoR2 sdílí vysokou strukturální homologii (u myši 66,7% identity). Adiponektin vykazuje pouze nevýrazný efekt na produkci cAMP, cGMP a hladiny intracelulárního kalcia. AdipoR1 je vysoce afinitní receptor pro globulární doménu adiponektinu, ale nízkofinitní pro celou molekulu adiponektinu, AdipoR2 vykazuje střední afinitu pro obě formy.

Produkce adiponektinu v bílé tukové tkáni vzrůstá během diferenciací adipocytů. Hypertrofie adipocytů vyvolaná stravou s vysokým obsahem tuků způsobuje naopak snížení produkce a sekrece všech hormonů zvyšujících inzulínovou senzitivitu (včetně adiponektinu) a zvýšení hormonů přispívajících k inzulínové rezistenci [8]. Snížení syntézy a sekrece adiponektinu způsobuje zvýšený kalorický příjem zvláště za podmínek leptinové deficience či rezistence. Jeho produkce a sekrece je také stimulována IGF-1. Thiazolidindiony (antidiabetika zvyšující inzulínovou senzitivitu – agonisté PPAR gam-

ma) stimulují expresi adiponektinového genu a zvyšují hladiny adiponektinu u obézních myši a u obézních pacientů s inzulínovou rezistencí [9].

Sérové koncentrace adiponektinu jsou zvýšené u konstitučně štíhlých jedinců a nízké u obézních. Abnormální příjem potravy a potravní chování u pacientů s poruchou příjmu potravy může vést ke změnám hladin cirkulujícího adiponektinu. U lidí byla prokázána negativní korelace mezi hladinami adiponektinu a body mass indexem (BMI), procentem tělesného tuku, koncentracemi inzulínu nalačno a hladinou triacylglycerolů v plazmě a pozitivní korelace s HDL cholesterolem. Chirurgická léčba morbidní obezity žaludeční bandáží vede ke zvýšení hladin adiponektinu v séru u diabetiků i nediabetických pacientů. Sérové koncentrace adiponektinu jsou sniženy u pacientů s poruchou glukózové tolerance a DM2 a negativně korelují s hladinami plazmatické glukózy měřenými ve 2. hodině orálního glukózového tolerančního testu. Na základě experimentálních prací můžeme předpokládat, že adiponektin bude do budoucna vhodným kandidátem pro vývoj léků ovlivňujících obezitu a DM2. Sérové hladiny adiponektinu se zdají být vhodným biomarkerem pro sledování inzulínové senzitivity ve spektru pacientů s metabolickým syndromem a během terapeutické intervence u těchto stavů.

Aplikace adiponektinu, rekombinantního adiponektinu nebo léků stimulujících sekreci či působení adiponektinu může v budoucnu vést ke zlepšení inzulínové senzitivity a glukózové tolerance a k nápravě hyperglykémie spojené s obezitou. Vliv thiazolidindionů na sekreci adiponektinu může alespoň z části vysvětlit hypoglykemizující účinek těchto léků u pacientů s DM2. Adiponektin je biomarkerem spojujícím jednotlivé složky metabolického syndromu a může v lékařské praxi nalézt široké využití.

Adiponektin byl také identifikován v pupečnickové krvi, kde jeho hladiny korelují s porodní hmotností vzhledem ke gestačnímu věku, negativně korelují s hmotnostním přírůstkem v prvních 6 měsících života a jsou prediktivním faktorem přírůstku tukové tkáně v prvních

3 letech života dítěte [10]. Je známo, že sérové hladiny adiponektinu negativně korelují s množstvím tělesného tuku u dětí mezi 5. a 10. rokem života. Naopak u donošených dětí v prvních dnech života korelují sérové a plazmatické hladiny adiponektinu pozitivně s porodní hmotností a délkou, množstvím tukové tkáně novorozence a cirkulujícími hladinami leptinu. U nedonošených dětí jsou sérové hladiny adiponektinu nižší než u donošených, korelují pozitivně s tělesnou hmotností a zvyšují se s postnatálním věkem. To je pravděpodobně odrazem poporodní metabolické adaptace nedonošeného dítěte [11].

Adiponektin byl v MM poprvé popsán v roce 2006 současně naším výzkumným týmem [12] a týmem Dr. Martin [13]. Vzhledem k biologickým vlastnostem adiponektinu, jeho přítomnosti v MM a přítomnosti AdipoR1 ve sliznici tenkého střeva u myší [14] a AdipoR1 a R2 ve sliznici kolon u lidí [15], je možné, že se adiponektin v MM podílí na programování některých fyziologických funkcí kojence. Weyermann a spol. popsali vyšší hladiny adiponektinu v MM matek, jejichž děti měly nadváhu ve 2 letech věku a byly kojeny alespoň 6 měsíců [16]. Náš výzkumný tým publikoval také změny koncentrací adiponektinu v MM v průběhu 12 měsíců laktace [17].

Leptin

Leptin (16 kDa) je cytokin produkovaný buňkami tukové tkáně a jeho sérové hladiny významně korelují s množstvím tukové tkáně v organismu u dospělých i u dětí a s BMI u dětí. Leptin je hlavním signálem adipocytů, který zprostředkuje centrálnímu nervovému systému informaci vedoucí k inhibici příjmu potravy a zvýšení energetického výdeje. Objev leptinu byl publikován v roce 1994 [18], i když již v roce 1950 byla popsána genová mutace v leptinovém genu (ob gen) u myší, která vedla k rozvoji morbidní obezity a diabetu již v časném věku.

Leptin má v organismu řadu receptorů. Dlouhá forma leptinového receptoru má v intracelulární doméně 303 aminokyselinových zbytků, zatímco krátká forma jen 34. Extracelulární domény obou typů receptorů jsou shodné. Mutace v genu pro leptinový receptor (db gen) vede také ke vzniku obezity. Krátká forma leptinového receptoru se vyskytuje především v buňkách chorioideálního plexu a předpokládá se, že se účastní regulace transportu leptinu ze séra přes hematoencefalickou bariéru [19].

Byla popsána korelace plazmatických hladin leptinu s jeho hladinami v mozkomíšním moku. Podání rekombinantního leptinu do CNS vede ke snížení příjmu potravy a tělesné hmotnosti u leptin-deficitních myší. Periferním podáním se dosáhne obdobného efektu, ale při použití vyšších dávek. Podání leptinu jedincům s prostou obezitou nemá očekávaný efekt, neboť tyto jedinci jsou hyperleptinemičtí a předpokládá se u nich leptinová rezistence [20]. Dlouhá forma leptinového receptoru je exprimována na hypothalamických neuronech, které produkují NPY. Podání leptinu inhibuje tvorbu NPY a ovlivňuje i melanokortinový systém. Také neurony produkující orexin jsou spolu s leptinem za-

pojeny do hypothalamických regulačních okruhů příjmu potravy. Chronická intraperitoneální aplikace leptinu působí významné snížení exprese preproorexinové mRNA v hypothalamu. Byla publikována práce, která popisuje rozvoj řady symptomů leptinové deficiencie při blokádě exprese leptinového receptoru v buňkách tukové tkáně, i přesto, že hlavním místem působení leptinu je CNS [21].

Leptin se u novorozence podílí na rozvoji hypothalamických drah centrální regulace energetické rovnováhy a příjmu potravy. Studie na myších prokázaly, že působením na mozkovou tkáň v kritické vývojové periodě se leptin podílí na utváření nervových okruhů, které kontrolují příjem potravy a množství tukové tkáně v pozdějších fázích vývoje.

Leptin je přítomen v pupečnickové krvi od druhého trimestru intrauterinního života a koreluje s množstvím tukové tkáně v době porodu [22]. U člověka koncentrace leptinu v pupečnickové krvi negativně koreluje s intrauterinním růstem. Předpokládá se, že leptin se podílí na regulaci růstu plodu. Hypotrofičtí novorozenci mají při narození nižší hladiny leptinu než novorozenci s normální porodní hmotností, zatímco novorozenci hypertrofičtí mají hladiny leptinu vyšší [23]. Koncentrace leptinu v pupečnickové krvi také negativně koreluje s hmotnostním přírůstkem v prvních 6 měsících života a BMI ve 3 letech [10].

Leptin je přítomen v MM člověka [24]. Je tvořen a secernován epiteliálními buňkami prsní žlázy ve formě tukových mikropapének [25]. Přes tyto epiteliální buňky také probíhá transport leptinu z krve do MM [26]. Koncentrace leptinu jsou vyšší v plném MM než v odstředěném MM [27], pravděpodobně proto, že leptin je vázán na tukové kapénky nebo jejich proteiny. Koncentrace leptinu je vyšší v kolostru než v přechodném MM (4-5 dnů po porodu) [28]. Receptory pro leptin byly nalezeny ve sliznici žaludku i tenkého střeva na myším modelu i u člověka [29]. Je možné, že leptin přechází z MM do krve kojence a může se podílet na krátkodobé regulaci příjmu potravy. Leptin podaný perorálně novorozencům myším byl přímo absorbován žaludeční sliznicí a vedl ke zvýšení hladin leptinu v séru. Po odstavení měly tyto myši po konzumaci stravy bohaté na tuk významně nižší hmotnost a nižší množství tělesného tuku v dospělosti, vyšší inzulinovou senzitivitu a menší chuťovou preferenci pro stravu bohatou na tuk [30]. Leptin v MM může z krátkodobého hlediska také působit u kojence jako signál sytosti [31, 32]. Koncentrace leptinu v MM pozitivně korelují se sérovými hladinami leptinu, BMI a množstvím tělesného tuku u matky [33] a s plazmatickými hladinami leptinu u dítěte [34]. Kojené děti mají v prvních měsících života vyšší sérové hladiny leptinu než děti živěné náhradní kojeneckou mléčnou výživou. Sérové hladiny leptinu u kojeneckých dětí také korelují s BMI matky [35]. Koncentrace leptinu v MM neobézních matek v 1. měsíci laktace negativně koreluje s BMI dítěte v 18 a 24 měsících života [36]. Lage a spol. našel leptin v komerčně dostupném kravském mléce a v přípravných náhradních kojeneckých mléčných výživách [37]. Ke stanovení však použil metodu RIA, která dle O'Connor a spol. není pro tuto analýzu vhodná

vzhledem k interferenci železa, emulsifikátorů a dalších aditiv, kterými jsou tato mléka pro náhradní kojeneckou výživu suplementována [38]. Stále tedy není známo, zda je leptin v přípravných náhradních kojenecké mléčné výživy přítomen.

Rezistin

Rezistin (12 kDa) byl objeven v roce 2001 jako jeden z adipocytokinů [39]. Účastní se regulace inzulínové senzitivity a diferenciací adipocytů. Název „rezistin“ je odvozen od jeho asociace s inzulínovou rezistencí u myši. Ovšem homologie mezi myším a lidským rezistinem je jen 64 % a u člověka je význam tohoto hormonu v regulaci inzulínové senzitivity menší. Rezistin je produkován nejen tukovou tkání, ale také v žaludku, střevě, nadledvinách, varlatech a kosterním svalstvu. Hladovění vede ke snížení tvorby rezistinové mRNA v tukové tkáni. U obézních jedinců jsou cirkulující hladiny rezistinu v krvi zvýšené, při redukci tělesné hmotnosti klesají [4]. Myši s nefunkčním genem pro rezistin mají zlepšenou glukózovou toleranci. Rezistin také snižuje příjem potravy působením na hypothalamická centra [40].

Rezistin byl nedávno identifikován v MM [41]. Icol a spol. popsali postupný pokles koncentrací rezistinu v MM v průběhu laktace. Hladiny rezistinu v MM i v séru pozitivně korelují s hladinami dalších hormonů (estradiol, progesteron, prolaktin, thyroxin, trijodothyronin, kortizol a leptin) a také s hladinami C-reaktivního proteinu (CRP). Hladiny rezistinu v séru kojenců jsou vyšší než hladiny v MM či v séru jejich matek. Koncentrace rezistinu v pupečnickové krvi korelují pozitivně s koncentracemi rezistinu v séru matek a negativně s porodní hmotností novorozence [42]. Dosud však není známo, jakou roli hraje rezistin ve vývoji plodu či kojenice.

Ghrelin

Ghrelin (4 kDa) je jediný známý periferní orexigenní peptid. Skládá se z 28 aminokyselinových zbytků a je tvořen především v enteroendokrinních buňkách žaludeční sliznice a v menší míře také ve sliznici tenkého a tlustého střeva, pankreatu a dalších orgánech včetně CNS. Ghrelin stimuluje vyplavování růstového hormonu, prolaktinu a adrenokortikotropního hormonu (ACTH), má orexigenní aktivitu, ovlivňuje žaludeční motilitu a sekreci, kardiovaskulární a pankreatické funkce, metabolismus glukózy a má antiproliferativní efekt. Je považován za komplementární prvek k leptinu [43]. Ghrelin byl objeven v roce 1999 jako přirozený ligand „sirotčího“ receptoru GHS1a, který je specifický pro skupinu syntetických peptidů (growth hormone secretagogues – GHS) podporujících sekreci růstového hormonu [44]. Plazmatické hladiny ghreluinu odrážejí krátkodobé změny příjmu potravy i dlouhodobé změny nutričního stavu organismu. Jsou sniženy po příjmu potravy a u obézních jedinců [45], naopak zvýšené jsou při lačnění a u pacientů s mentální anorexií. Plazmatické hladiny ghreluinu u člověka negativně korelují s BMI, množstvím tělesného tuku, velikostí adipocytů, plazmatickými hladinami inzulínu, glukózy a leptinu [46]. Vzestup hladin ghreluinu bezprostředně před příjmem

potravy naznačuje, že ghrelin hraje úlohu v přípravné fázi – jako metabolický signál pocitu hladu. U hlodavců zvyšuje aplikace ghreluinu tělesnou hmotnost a množství tukové tkáně prostřednictvím zvýšení příjmu potravy i snížením energetického výdeje [47].

V placentě je ghrelin přítomen především v cytotrofoblastu, méně pak v syncytiotrofoblastu. Úloha ghreluinu v autokrinních, parakrinních i endokrinních mechanismech fetálně-maternální interakce je předmětem studií [48]. Hladiny ghreluinu vzrůstají ve třetím týdnu těhotenství a klesají v pozdních stadiích gestace. U novorozenců byla popsána přítomnost imunoreaktivního ghreluinu v pupečnickové krvi [49].

Ghrelin byl také identifikován v MM. Je tvořen buňkami mléčné žlázy, ale částečně přechází do MM i z plazmy [50]. Koncentrace ghreluinu v MM jsou dokonce vyšší než koncentrace plazmatické [51]. V MM byl také prokázán tzv. „aktivní ghrelin“ – acylovaná forma ghreluinu s plnou biologickou účinností. Jeho koncentrace v MM stoupají během laktace a korelují se sérovými hladinami ghreluinu u kojenců [52]. Byla popsána korelace mezi cirkulujícími hladinami ghreluinu a věkem, hmotností a tělesnou délkou u kojenců v průběhu časného kojeneckého období a negativní korelace s přírůstkem hmotnosti u dětí, které byly kojeny alespoň po dobu 4 měsíců, nikoliv však u dětí nekojených. U nekojených dětí krmených výhradně náhradní kojeneckou mléčnou výživou byly nalezeny vyšší sérové hladiny ghreluinu [53] a jejich pozitivní korelace s dobou mezi jídly (fasting time) v prvních 6 měsících života. Ghrelin přítomný v MM může být jedním z faktorů, jejichž prostřednictvím je regulován příjem potravy a potravní chování kojeného dítěte a následně i tělesné složení v pozdějším věku.

Obestatin

Obestatin (2,5 kDa) je nově objevený peptid odvozený od ghrelinového genu, který snižuje příjem potravy působením přes receptor GRP39 [54]. Obestatin se skládá z 23 aminokyselinových zbytků a je odvozen od ghrelinového prekurzoru preproghreluinu. Je tvořen v žaludeční sliznici, tenkém střevě a slinných žlázách [55]. Obestatin snižuje příjem potravy, tělesnou hmotnost a vyprazdňování žaludku a potlačuje střevní motilitu. Bylo rovněž popsáno, že obestatin potlačuje pocit žízně a úzkost, zlepšuje paměť, reguluje spánkový cyklus, stimuluje buněčnou proliferaci a zvyšuje exokrinní pankreatickou sekreci [56]. Plazmatické hladiny obestatinu jsou zvýšené u pacientů s mentální anorexií, u kterých by mohl být markerem krátkodobých i dlouhodobých změn nutričního stavu. Jeho úloha v regulaci příjmu potravy a mechanismus účinku nejsou dosud plně prostudovány. Pokud bude anorektický efekt obestatinu potvrzen, mohl by se stát dalším z potenciálních kandidátů pro léčbu obezity.

Obestatin byl popsán v MM v roce 2008 [57]. Aydin a spol. stanovili hladiny obestatinu u 31 kojících matek v séru, v kolostru (den 2. po porodu) a ve zralém MM (den 25.). Nalezli více než 2x vyšší koncentrace v MM (jak v kolostru tak ve zralém MM) než v séru. Není známo, zda je obestatin tvořen přímo buňkami mléčné žlá-

zy či je secernován do MM ze séra. Fyziologický efekt tohoto hormonu v kojeneckém organismu nebyl dosud identifikován.

Inzulínu podobný růstový faktor-1 (Insulin-Like Growth Factor-1, IGF-1)

IGF jsou polypeptidové molekuly s jedním řetězcem a třemi sulfidovými můstky. IGF-1 je jednořetězcový bazický peptid tvořený 70 aminokyselinovými zbytky s molekulovou hmotností 7,65 kDa a IGF-2 je lehce kyselý peptid tvořený 67 aminokyselinovými zbytky s molekulovou hmotností 7,47 kDa. Nejpodstatnější pro zprostředkování účinku růstového hormonu (RH) je IGF-1. IGF-2 pravděpodobně sehrává významnou roli především v embryonálním a časném fetálním vývoji [58].

Důležitým rozdílem mezi IGF-1 a inzulínem je jejich odlišný poločas v krvi. Zatímco inzulín má poločas 4 minuty a jeho sekrece je pulzující, reaguje tedy na akutní změny metabolické situace, poločas IGF-1 je přibližně 15 hodin. To znamená, že reguluje metabolismus v dlouhodobějším horizontu. Delší poločas je zajištěn vazbou na plazmatické vazebné proteiny (IGFBP-1 - IGFBP-6). Stanovení hladiny celkového IGF-1 z jednoho krevního odběru podává validní a reprodukovatelnou informaci o jeho sekreci [59].

IGF-1 působí prostřednictvím několika typů receptorů – IR (inzulínový receptor), IGF-IR, IGF-IIR, dále několika atypických receptorů včetně receptoru podobného inzulínovému receptoru (insulin receptor-related receptor) a hybridního receptoru IR-IGF-IR. Hlavním zdrojem cirkulujícího IGF jsou játra. Lokální - autokrinní a parakrinní - působení IGF je považováno za důležitý moment v regulaci růstu a diferenciaci tkání. Z tohoto důvodu je třeba při interpretaci poznatků o IGF vždy důsledně diferencovat mezi cirkulujícími hladinami IGF a jeho tkáňovými hladinami.

Sekreci IGF-1 ovlivňují srovnatelnou měrou tři faktory: RH, výživa a cytokiny. Hladiny IGF-1 se snižují při dlouhodobém hladovění a celkově špatném nutričním stavu, ale nejsou bezprostředně ovlivněny příjmem potravy. Nízké hladiny IGF-1 byly nalezeny u dětí s celiakií, u pacientek s mentální anorexií a u dětí s cystickou fibrózou. Také aktivace imunitního systému při různých formách zánětu vede k supresi hladin IGF-1. To bylo prokázáno u pacientů v septickém stavu, při systémových onemocněních či malignitách, ale i po polytraumatu či vážném operačním zákroku. Signálem k supresi hladiny IGF-1 jsou velmi pravděpodobně cytokiny, zvláště interleukin-6. Dále je sekrece IGF-1 modulována i dalšími působky, zejména pohlavními hormony, inzulínem, kortizolem a hormony štítné žlázy [59].

Klagsburn poprvé prokázal v MM přítomnost faktoru, který stimuloval růst buněk v buněčné kultuře. Baxter a spol. v MM identifikovali IGF-1 [60]. Hladiny IGF-1 jsou několikanásobně vyšší v kolostru než ve zralém MM a snižují se během několika dnů po začátku laktace. IGF-1 hraje klíčovou roli v embryonálním a postnatálním vývoji. Hladiny IGF-1 v pupečnickové krvi korelují s porodní hmotností novorozence. U dětí s intrauterinní růstovou retardací jsou hladiny IGF-1 v pupečnicku snižené ve srovnání s eutrofickými novorozenci. Děti kr-

mené náhradní kojeneckou mléčnou výživou mají vyšší sérové hladiny IGF-1 než děti kojené [53]. U zdravých dětí v prvních 5 měsících života byla prokázána pozitivní korelace mezi hladinami IGF-1 a Z-skóre tělesné hmotnosti, BMI, tloušťkou kožní řasy nad tricepsem a věkem. V tomto období se u kojenců předpokládá utváření hormonální osy IGF-1. V poslední době byly v MM identifikovány také IGFBP [61].

Vazebné proteiny mastných kyselin (fatty acid binding proteins, FABP)

FABP (13-14 kDa) jsou přítomny v mnoha tkáních různých živočišných druhů a jsou fylogeneticky vysoce konzervované. Patří do velké skupiny tzv. „intracellular lipid binding proteins“ (iLBPs), které ovlivňují transport a metabolismus různých lipofilních ligandů v cytosolu buněk [62]. Úloha různých FABP je různá podle toho, v jaké tkáni jsou exprimovány. U savců je známo celkem 8 různých druhů FABP, všechny sdílejí identickou genovou strukturu (4 konzervované exony + 3 introny o různé délce). Předpokládá se, že se podílejí zejména na:

- vstupu mastných kyselin (MK) do buňky
- vytváření intracelulárního poolu MK pro jejich rychlé metabolické využití
- zabránění detergenčního účinku MK na intracelulární struktury
- usměrňování MK do různých metabolických drah a modulaci enzymatických aktivit
- intracelulární signalizaci a genové regulaci zprostředkované MK
- ovlivnění buněčného růstu a diferenciaci

Obzvláště bohaté na FABP jsou tkáně, kde probíhá intenzivní metabolismus MK. Expres FABP se zvyšuje při vzestupu intracelulární koncentrace MK, která vede k aktivaci nukleárních transkripčních faktorů, zejména podtypů PPAR. Je známo, že přirozenými ligandy PPAR jsou zejména MK s dlouhým řetězcem a některé eikosanoidy. FABP ve spojení se svými lipofilními ligandy (např. MK nebo xenobiotiky) mohou také vstoupit do buněčného jádra a ovlivnit buněčný cyklus [63]. V experimentu ztráta funkce AFABP (adipocytární FABP) vede na lidských buněčných liniích k rozvoji karcinomu. Aplikace EFABP (epidermální FABP) do kůže snižuje proliferaci buněk melanomu bez ovlivnění nádorových buněk – fibroblastů. BFABP (mozkový FABP) na myším modelu potlačuje růst buněk karcinomu prsu [63]. V poslední dekádě byl zaznamenán velký pokrok ve výzkumu struktury a vazebných interakcí FABP. Nyní je pozornost obrácena zejména na mechanismy jejich genové exprese a interakce s ostatními proteiny uvnitř buňky.

AFABP je predominantním cytosolickým proteinem zralých adipocytů (cca 6% celkových buněčných proteinů), který byl v poslední době označen za významný regulátor inzulínové senzitivity a metabolismu lipidů a glukózy. U člověka je AFABP považován za biomarker obezity a metabolického syndromu [64]. Nedávno bylo zjištěno, že AFABP není výhradně cytosolickým proteinem, ale je také adipocyty secernován do krve. Jeho sérové hladiny jsou signifikantně zvýšené u obézních

jedinců a pozitivně korelují s obvodem pasu, hodnotou krevního tlaku, parametry lipidového metabolismu, hladinou inzulinu nalačno a indexem inzulinové rezistence (HOMA). Navíc jsou hladiny AFABP vyšší u osob, které mají více složek metabolického syndromu. Sérové hladiny AFABP se liší u jedinců s přechodným a permanentním snížením tělesné hmotnosti. Myši s deficitem AFABP jsou chráněny před rozvojem hyperinzulinémie, hyperglykémie a inzulinové rezistence. Jejich adipocyty mají sníženou schopnost lipolýzy a uvolňují 2-3 krát méně mastných kyselin. Vyřazení genu pro AFABP vedlo u myši ke snížení rizika rozvoje aterosklerózy [65]. AFABP je také exprimován v makrofázích, kde moduluje produkci prozánětlivých cytokinů a akumulaci esterů cholesterolu. Předpokládá se indukce jeho exprese prostřednictvím oxidovaných lipoproteinů o nízké hustotě (oxLDL) a suprese statiny.

V roce 1986 byly FABP izolovány z bovinní mléčné žlázy, kde jsou v komplexu s dalšími proteiny součástí membrány tukových kapének [66]. V mléčné žláze je exprimován zejména AFABP a HFABP (srdeční FABP). V roce 1992 bylo experimentálně prokázáno, že lipidy a další faktory obsažené v kolostru indukují aktivitu FABP ve střevě novorozenech prasat a stimulují časný postnatální vývoj GIT. V roce 1993 byla exprese AFABP prokázána v myši mléčné žláze. Předpokládá se, že proteiny ze skupiny FABP působí jako diferenciální faktory na buňky mléčné žlázy a podporují syntézu mléčných proteinů. Maximální exprese FABP v mléčné žláze je dosaženo v průběhu laktace. Přítomnost AFABP a EFABP v MM člověka byla poprvé prokázána naším týmem v roce 2006 [12].

Literatura

- Rajdl, D., Racek, J., Trefil, L., Steinerová, A., Korotvička, M., Stožický, F., Rokyta, Z.** Vybrané rizikové faktory aterosklerózy a kojení. *Klinická Biochemie a Metabolismus*, 2005, 13(1), s. 36-39.
- Savino, F., Liguori, S. A., Fissore, M. F., Oggero, R.** Breast milk hormones and their protective effect on Obesity. *Int. J. Pediatr. Endocrinol.*, 2009, article number 327505, s. 1-8.
- Nedvídková, J., Smitka, K., Kopský, V., Hainer V.** Adiponectin, an adipocyte-derived protein. *Physiol. Res.*, 2005, 54, s. 133-140.
- Belkowski, J.** Adiponectin and resistin – new hormones of white adipose tissue. *Med. Sci. Monit.*, 2003, 9, RA55-61.
- Fortuno, A., Rodriguez, A., Gomez-Ambrosi, J., Fruhbeck, G., Diez, J.** Adipose tissue as an endocrine organ: role of leptin and adiponectin in the pathogenesis of cardiovascular diseases. *J. Physiol. Biochem.*, 2003, 59, s. 51-60.
- Filippi, E., Sentinelli, F., Trischitta, V., et al.** Association of the human adiponectin gene and insulin resistance. *Eur. J. Hum. Genet.*, 2004, 12, s. 199-205.
- Yamauchi, T., Kamon, J., Ito, Y. et al.** Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*, 2003, 423, s. 762-769.
- Kershaw, E. E., Flier, J. S.** Adipose tissue as an endocrine organ. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2004, 89, s. 2548-2556.
- Lihn, A. S., Pedersen, S. B., Richelsen, B.** Adiponectin: action, regulation and association to insulin sensitivity. *Obes. Rev.*, 2005, 6, s. 13-21.
- Mantzoros, C. S., Rifas-Shiman, S. L., Williams, C. J. et al.** Cord blood leptin and adiponectin as predictors of adiposity in children at 3 years of age: a prospective cohort study. *Pediatrics*, 2009, 123, s. 682-689.
- Siahanidou, T., Mandyla, H., Papassotiropoulos, G. P. et al.** Circulating levels of adiponectin in preterm infants. *Arch. Dis. Child*, 2007, 92, F286-F290.
- Bronsky, J., Karpisek, M., Bronska, E. et al.** Adiponectin, adipocyte fatty acid binding protein, and epidermal fatty acid binding protein: proteins newly identified in human breast milk. *Clin. Chem.*, 2006, 52, s. 1763-1770.
- Martin, L. J., Woo J. G., Geraghty, S. R. et al.** Adiponectin is present in human milk and is associated with maternal factors. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2006, 83, s. 1106-1111.
- Zhou, Y., Sun, X., Jin, L., Stringfield, T., Lin, L., Chen, Y.** Expression profiles of adiponectin receptors in mouse embryos. *Gene Expression Patterns*, 2005, 5, s. 711-715.
- Bronsky, J., Mitrova, K., Nevorál, J., Zamecnik J.** Immunoeexpression of type-1 adiponectin receptor in the human intestine. *Cesk. Patol.*, 2012, 48(3), s. 165-166.
- Weyermann, M., Brenner, H., Rothenbacher, D.** Adipokines in human milk and risk of overweight in early childhood: a prospective cohort study. *Epidemiology*, 2007, 18, s. 722-729.
- Bronsky, J., Mitrova, K., Karpisek, M., et al.** Adiponectin, AFABP and leptin in human breast milk during twelve months of lactation. *J. Pediatr. Gastr. Nutr.*, 2011, 52, s. 474-477.
- Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., et al.** Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 1994, 372, s. 425-432.
- Munzberg H.** Leptin-signaling pathways and leptin resistance. *Forum Nutr.*, 2010, 63, s. 123-132.
- Bjorbaek, C.** Central leptin receptor action and resistance in Obesity. *J. Investig. Med.*, 2009, 57, s. 789-794.
- Huan, J. N., Li, J., Han, Y., Chen, K., Wu, N., Zhao, A. Z.** Adipocyte-selective reduction of the leptin receptors induced by antisense RNA leads to increased adiposity, dyslipidemia, and insulin resistance. *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, s. 45638-45650.
- Tsai, P. J., Yu, C. H., Hsu, S. P. et al.** Cord plasma concentrations of adiponectin and leptin in healthy term neonates: positive correlation with birthweight and neonatal adiposity. *Clin. Endocrinol.*, 2004, 61, s. 88-93.
- Koistinen, H. A., Koivisto, V. A., Andersson, S. et al.** Leptin concentration in cord blood correlates with intrauterine growth. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997, 82, s. 3328-3330.
- Casabiell, X., Pineiro, V., Tome, M. A. et al.** Presence of leptin in colostrum and/or breast milk from lactating mothers: a potential role in the regulation of neonatal food intake. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997, 82, s. 4270-4273.
- Smith-Kirwin, S. M., O'Connor, D. M., De Johnston, J. et al.** Leptin expression in human mammary epithelial cells and breast milk. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998, 83, s. 1810-1813.
- Bonnet, M., Delavaud, C., Laud, K. et al.** Mammary leptin synthesis, milk leptin and their putative physiological roles. *Reproduct. Nutr. Dev.*, 2002, 42, s. 399-413.

27. **Houseknecht, K. L., McGuire, M. K., Portocarrero, C. P. et al.** Leptin is present in human milk and is related to maternal plasma leptin concentration and adiposity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1997, 240, s. 742–747.
28. **Bielicki, J., Huch, R., Von Mandach, U.** Time-course of leptin levels in term and preterm human milk. *Eur. J Endocrinol.*, 2004, 151, s. 271–276.
29. **Barrenetxe, J., Villaro, A. C., Guembe, L. et al.** Distribution of the long leptin receptor isoform in brush border, basolateral membrane, and cytoplasm of enterocytes. *Gut*, 2002, 50, s. 797–802.
30. **Sanchez, J., Oliver, P., Miralles, O. et al.** Leptin orally supplied to neonate rats is directly uptaken by the immature stomach and may regulate short-term feeding. *Endocrinology*, 2005, 146, s. 2575–2582.
31. **Stocker, C. J., Cawthorne, M. A.** The influence of leptin on early life programming of *Obesity*. *Trends in Biotechnology*, 2008, 26, s. 545–551.
32. **Palou, A., Pic, C.** Leptin intake during lactation prevents *Obesity* and affects food intake and food preferences in later life. *Appetite*, 2009, 52, s. 249–252.
33. **Ilcol, Y. O., Hizli, Z. B., Ozkan, T.** Leptin concentration in breastmilk human and its relationship to duration of lactation and hormonal status. *Int. Breastfeeding*, 2006, J 17, s. 1–21.
34. **Ucar, B., Kirel, B., Bor, O. et al.** Breast milk leptin concentrations in initial and terminal milk samples: relationships to maternal and infant plasma leptin concentrations, adiposity, serum glucose, insulin, lipid and lipoprotein levels. *J Pediatr. Endocrin. Metab.*, 2000, 13, s. 149–156.
35. **Savino, F., Liguori, S. A., Oggero, R. et al.** Maternal BMI and serum leptin concentration of infants in the first year of life. *Acta Paediatr.*, 2006, 95, s. 414–418.
36. **Miralles, O., Sanchez, J., Palou, A., Pic, C.** A physiological role of breast milk leptin in body weight control in developing infants. *Obesity*, 2006, 14, s. 1371–1377.
37. **Lage, M., Baldelli, R., Camina, J. P., et al.** Presence of bovine leptin in edible commercial milk and infant formula. *J Endocrin. Invest.*, 2002, 25, s. 670–674.
38. **O'Connor, D., Funanage, V., Locke, R. et al.** Leptin is not present in infant formulas. *J Endocrinol. Invest.*, 2003, 26, s. 490.
39. **Steppan, C. M., Bailey, S. T., Bhat, S., et al.** The hormone resistin links *Obesity* to *Diabetes*. *Nature*, 2001, 409, s. 307–312.
40. **Tovar, S., Nogueiras, R., Tung, L. Y., et al.** Central administration of resistin promotes short-term satiety in rats. *Eur. J Endocrinol.*, 2005, 153, R1–R5.
41. **Ilcol, Y. O., Hizli, Z. B., Eroz, E.** Resistin is present in human breast milk and it correlates with maternal hormonal status and serum level of C-reactive protein. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2008, 46, s. 118–124.
42. **Cho, G. J., Yoo, S. W., Hong, S. C. et al.** Correlations between umbilical and maternal serum resistin levels and neonatal birth weight. *Acta Obstetr. et Gynecol. Scand.*, 2006, 85, s. 1051–1056.
43. **Shintani, M., Ogawa, Y., Ebihara, K., et al.** Ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway. *Diabetes*, 2001, 50, s. 227–232.
44. **Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., et al.** Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, 1999, 402, s. 656–660.
45. **Tschop, M., Weyer, C., Tataranni, P. A., et al.** Circulating ghrelin levels are decreased in human *Obesity*. *Diabetes*, 2001, 50, s. 707–709.
46. **Bacha, F., Arslanian, S. A.** Ghrelin suppression on overweight children: a manifestation of insulin resistance? *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 2005, 90, s. 2725–2730.
47. **Tschop, M., Smiley, D. L., Heiman, M. L.** Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*, 2000, 407, s. 908–913.
48. **Gualillo, O., Caminos, J., Blanco, M. et al.** Ghrelin, a novel placental-derived hormone. *Endocrinology*, 2001, 142, s. 788–794.
49. **Chanoine, J. P., Yeung, L., Wong, A., Birmingham, C. L.** Immunoreactive Ghrelin in Human Cord Blood: Relation to Anthropometry, Leptin, and Growth Hormone. *J Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 2002, 35, s.: 282–286.
50. **Aydin, S., Aydin, S., Ozkan, Y., Kumru, S.** Ghrelin is present in human colostrum, transitional and mature milk. *Peptides*, 2006, 27, s. 878–882.
51. **Kierson, J., Dimatteo, D., Locke, R. G. et al.** Ghrelin and cholecystokinin in term and preterm human breast milk. *Acta Paediatr.*, 2006, 95, s. 991–995.
52. **Ilcol, Y. O., Hizli, Z. B.** Active and total ghrelin concentrations increase in breast milk during lactation. *Acta Paediatr.*, 2007, 96, s. 1632–1639.
53. **Savino, F., Fissore, M. F., Grassino, E. C. et al.** Ghrelin, leptin and IGF-I levels in breastfed and formula-fed infants in the first years of life. *Acta Paediatr.*, 2005, 94, s. 531–537.
54. **Zhang, J. V., Ren, P. G., Avsian-Kretschmer, O., et al.** Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science*, 2005, 310, s. 996–999.
55. **Ozbay, Y., Aydin, S., Dagli, A. F., et al.** Obestatin is present in saliva: alterations in obestatin and ghrelin levels of saliva and serum in ischemic heart disease. *BMB Reports*, 2008, 41, s. 55–61.
56. **Tang, S. Q., Jiang, Q. Y., Zhang, Y. L., et al.** Obestatin: its physicochemical characteristics and physiological functions. *Peptides*, 2008, 29, s. 639–645.
57. **Aydin, S., Ozkan, Z., Erman, F. et al.** Presence of obestatin in breast milk: relationship among obestatin, ghrelin, and leptin in lactating women. *Nutrition*, 2008, 24, s. 689–693.
58. **Backeljauw, P., Bang, P., Clayton, P. E., et al.** Diagnosis and management of primary insulin-like growth factor-I deficiency: current perspectives and clinical update. *Pediatr. Endocrinol. Rev.*, 2010, 7, s. 154–171.
59. **Duan, C., Ren, H., Gao, S.** Insulin-like growth factors (IGFs), IGF receptors, and IGF-binding proteins: roles in skeletal muscle growth and differentiation. *Gen Comp. Endocrinol.*, 2010, 167, s. 344–351.
60. **Baxter, R. C., Zaltsman, Z., Turtle, J. R.** Immunoreactive somatomedin-C/insulin-like growth factor I and its binding protein in human milk. *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 1984, 58, s. 955–959.
61. **Elmlinger, M. W., Hochhaus, F., Loui, A. et al.** Insulin-like growth factors and binding proteins in early milk from mothers of preterm and term infants. *Horm. Res*, 2007, 68, s. 124–131.
62. **Storch, J., McDermott, L.** Structural and functional analysis of fatty acid-binding proteins. *J Lipid Res.*, 2009, 50, s. S126–131.
63. **Schroeder, F., Petrescu, A. D., Huang, H., et al.** Role of fatty acid binding proteins and long chain fatty acids in modulating nuclear receptors and gene transcription. *Lipids*, 2008, 43, s. 1–17.

64. **Simon, I., Escote, X., Vilarrasa, N., et al.** Adipocyte fatty acid-binding protein as a determinant of insulin sensitivity in morbid-obese women. *Obesity*, 2009, 17, s. 1124-1128.
65. **Baar, R. A., Dingfelder, C. S., Smith, L. A., et al.** Investigation of in vivo fatty acid metabolism in AFABP/aP2(-/-) mice. *Am. J Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2005, 288, E187-193.
66. **Whetstone, H. D., Hurley, W. L., Davis, C. L.** Identification and characterization of a fatty acid binding protein in bovine mammary gland. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 1986, 85, s. 687-692.

Podpořeno projektem (Ministerstva zdravotnictví) koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00064203/6001 (FN MOTOL).

Do redakce došlo 30. 7. 2012

Adresa pro korespondenci:
Doc. MUDr. Jiří Bronský, Ph.D.
Pediatrická klinika FN Motol
V Úvalu 84
150 06 Praha 5 – Motol
email: bronsky@email.cz

Smuteční oznámení - Prof. Dr. Hermann Wisser

* 8. 4. 1933; † 27.11. 2012

Po krátké těžké nemoci zemřel v nemocnici „Robert-Bosch-Krankenhaus“ ve Stuttgartu, tedy v ústavu, který mnoho let osobně řídil, dne 27. listopadu 2012 profesor Hermann Wisser. Spolu s ním ztratila evropská, německá, ale i česká laboratorní medicína jednu z nejvýznamnějších a předních postav.

Hermann Wisser se narodil 8. 4. 1933 v Gelsenkirchenu. Do základní školy chodil do Bollendorfu v okrese Bitburg v Eifel. Na Friedrich-Wilhelm (humanitní/klasické) gymnasium nastoupil v Trevíru (v rodišti Karla Marxe, jak sám zdůrazňoval) a maturoval zde v roce 1954. Po maturitě začal ihned studovat medicínu na universitě v Marburgu a odtud přešel ke klinické části studia v roce 1957 na universitu v Göttingen, kde dostal stipendium „die Studienstiftung des Deutschen Volkes“. Promoval v roce 1959 prací „Vergleichende Untersuchung verschiedener Methoden zur Bestimmung des Bikarbonatgehalts im Plasma“. Za tuto práci dostal cenu lékařské fakulty a jak je z jejího názvu patrné, vyjadřuje již jeho zájem o klinickou biochemii, který se postupem času stále více prohluboval. Od roku 1960 začal pracovat na lékařské fakultě university v Göttingen jako odborný asistent a pomocí získaného grantu pokračoval souběžně ve studiu chemie na universitě v Mainzu. I zde je již zřetelně a programově vidět směr jeho studijního zájmu a orientace na integrované spojení studia medicíny a přírodních věd. Vyměnil místo asistenta v Göttingen za totéž v Rüsselsheimu a Wolfsburgu, a v roce 1964 dosáhl druhé atestace. V roce 1966 ukončil vysokoškolská studia chemie, ihned ale pokračoval dále v doktorandském studiu a v roce 1967 dosáhl titulu doktora přírodních věd. Jeho doktorská disertace má název „Zur Analytik der Guanidin-Verbindungen menschlichen Serums“. Po obhajobě doktorátu přešel do Mnichova, na věhlasné a světově známé MPI v Mnichově (Max Planck Institut für Psychiatrie in München) kde pracoval jako vrchní asistent na oddělení (i v Československu velmi dobře známého) prof. Dankwarta Stamma (tvůrce první verze Rilibaeku; čestný člen ČSKB 1988). Spolu se svým dlouholetým přítelem dr. E. Knollem publikoval v oblasti analytiky a preanalytiky endokrinních hormonů, stejně jako v oblasti katecholaminů a endokrinologických cirkadiálních rytmů a biologické variability. V roce 1970 absolvoval zkoušku a získal od DGKL (Deutsche Gesellschaft für klinische Chemie) osvědčení a uznání jako klinický chemik. Přesídlil pak k prof. Johannesu Büttnerovi do ústavu klinické biochemie a laboratorní medicíny (Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der medizinischen Hochschule Hannover) v Hannoveru kde dosáhl v roce 1971 privátní docentury. Nadále odborně pracoval zejména v oblasti preanalytiky a analytiky biologicky aktivních látek a hormonů. Jeho již plně samostatná odborná cesta pak vedla do Stuttgartu, kde byl od roku 1972 v asi nejznámější mo-

derní stuttgartské klinice - Robert-Bosch-Krankenhaus jmenován profesorem a vedoucím oddělení klinické chemie (der Abteilung für Klinische Chemie/Laboratoriumsmedizin). Zde působil od roku 1972 nepřetržitě 26 let (stal se i ředitelem celé nemocnice) až do roku 1998 kdy odešel z vedoucích funkcí pro dosažení stanovené věkové hranice. Souběžně při svém působení na klinice Robert Bosch dosáhl titulu profesora i na Medizinische Hochschule v Hannoveru v roce 1978 a v téže roce pak téhož titulu a pozice na universitě ve Stuttgartu. Vedení celé nemocnice a Bosch Foundation včas rozpoznalo jeho vynikající odborné schopnosti a pomáhalo mu po celou dobu jeho působení ve Stuttgartu rozvíjet jeho vědecké i organizační aktivity. Jím vedené oddělení laboratorní medicíny (zahrnující prakticky většinu u nás často ještě atomizovaných podoborů jako např. klinická biochemie, mikrobiologie, transfúzní medicína, hematologie i imunologie) se stalo v nemocnici tvůrčím a vědeckým centrem nejen v Bádensko-Württenbersku, ale i v Německu a postupně i v celé Evropě. Odtud pak pocházejí jeho původní práce na analýze pomocí vázaných činidel („suchá chemie“), průkopnické práce v oblasti preanalytiky (s prof. Guderem a dalšími), práce v oblasti katecholaminů, androgenních receptorů, analytiky moče a řada dalších. Za zmínku stojí, že mu byla ještě nabídnuta řádná profesura na universitě v Bonnu, kterou ale pro časové zaneprázdnění odmítl.

Jeho odchod z vedoucích funkcí byl spojen s „drobným rozloučením“ s přáteli. Jeden z nás (VP) byl na tuto akci pozván – několik set lidí z Německa ale i dalších zemí Evropy mu přišlo poděkovat za spolupráci, odbornou i lidskou pomoc. Bylo až neskutečné sledovat jednak uctivě přátelský vztah lidí k Hermanovi, jednak jeho neskutečný rozhled a moderní myšlení (hlavní přednáška na tomto rozloučení byla věnována možnostem a způsobu řešení chaosu, jakož i přínosu chaosu k rozvoji lidstva a medicíny).

Prof. Wisser byl vždy oddaný svému oboru, stejně jako své mateřské odborné společnosti DGKL (Deutsche Gesellschaft für klinische Chemie) a zúčastňoval se na různých evropských i světových postech posilování jejího rozvoje. V letech 1979 až 1990 působil jako vedoucí externí kontroly kvality DGKL Bonn. V letech 1980 až 1984 byl viceprezidentem a pak po dvě možná funkční období i prezidentem DGKL (1988 až 1992); řadu let předtím i potom působil v pětičlenném výboru DGKL. Byl i po několik období 1990 až 1998 lékařským ředitelem celé nemocnice Robert-Bosch-Krankenhaus a do této funkce byl demokraticky zvolen (ne jmenován), což svědčí o jeho přirozené autoritě a vysokých morálních zásadách. Stál u zrodu Evropské společnosti klinické chemie, byl jejím iniciátorem na jednání v Pont-a-Mouson a v letech 1991-1993 také prvním prezidentem FESCC (Forum of the European Societies of Clinical

Chemistry) – předchůdce dnešního EFLM. Výrazně se z těchto vůdčích pozic podílel nejen na sjednocení Německa v oblasti medicíny a lékařských věd, ale měl i výrazný vliv na rychlé začlenění odborníků v oblasti laboratorní medicíny z bývalých států východního bloku do všech evropských struktur. Oba autoři mohou jeho pomoc české klinické biochemii dokumentovat z vlastní praxe zejména z let 1989 až 1991. V pravdě průkopnický vybudoval mohutnou a jedolitou a akční evropskou strukturu v oblasti klinické biochemie a laboratorní medicíny. Byl čestným členem mnoha evropských odborných společností (maďarské, lucemburské, holandské, švýcarské aj.) a po zásluze se stal v roce 1992 i čestným členem naší ČSKB. Vedle toho byl i čestným profesorem university v maďarské Pécsi a řady dalších evropských universit. Německá DGKL jej odměnila v roce 2003 Schererovou medailí.

Jak už jsme uvedli k 30. dubnu 1998 prof. Wisser ve Stuttgartu v souladu s řádem Robert Bosch Foundation abdikoval. Ale dlouho při své pověstné neutuchající aktivitě a vitalitě v zaslouženém důchodu nezůstal. (Mimo chodem – tento skromně a nenápadně vypadající typický universitní profesor si k pětadesátým narozeninám pořídil nejnovější model supersportovního Mercedesu a až s dětinskou radostí předváděl jeho jízdní vlastnosti či sklápěcí střechu.) Obratem nastoupil do jednoho z nejstarších, nejslavnějších a nejprestižnějších německých ústavů laboratorní medicíny, a sice jako vedoucí ústavu klinické biochemie lékařské fakulty v Mannheimu (pobočka university v Heidelbergu). Okamžitě zcela předělal starobylý klasický ústav, provedl řadu změn a modernizací pro které získal i podporu vedení university v Heidelbergu a položil tak základy moderní výuky laboratorní medicíny na tamní universitě. O jeho kvalitách svědčí i to, že jeho mannheimské

pracoviště bylo vícekrát oceněno jako nejlepší výukové centrum lékařské fakulty heidelberské university. Ve více než 70 letech po 4 letech usilovné práce (pravidelně na své pracoviště dojížděl ze svého bydliště ve Stuttgartu) opouští i tento ústav. Nadále se však zúčastňoval odborného života německé a evropské laboratorní medicíny. Ještě na jaře loňského roku se aktivně zúčastnil Staudinger-Symposia v Kloster Banz. Vedle toho i sloužil (prakticky až do svého skonu) novému vedení ústavu klinické biochemie a laboratorní medicíny v Robert-Bosch-Krankenhaus jako vědecký poradce.

Hermann Wisser byl nejen špičkový odborník v laboratorní medicíně, výborný člověk s vysokými morálními zásadami, excelentní organizátor světového formátu, ale i klasický demokrat v pravém slova smyslu toho slova. Inspiroval svou prací, workholismem i svým životem mnoho mladých kolegů vědecky a formoval jejich životní cesty. Jeho studenti, žáci a odchovanci jsou vedle Německa roztroušeni prakticky po celé Evropě. Měl v Evropě mnoho přátel jak odborných, tak osobních. Jeho dům, ve kterém žil s milovanou manželkou (její úmrtí před několika lety ho více než hluboce zasáhlo), byl vždy otevřen všem kolegům a přátelům. Nebylo větší laboratorní centrum klinické biochemie v Evropě, kde by ho neznali. Jeho odchod jsme přijali s lítostí a je pro nás velkou osobní ztrátou. Byl a je velkým vzorem pro nás všechny a budeme na něj vzpomínat. To, co udělal pro začlenění české klinické biochemie do Evropy, asi ani nejsme schopni dostatečně docenit.

Čest jeho památce.

*Josef Kratochvíla
Vladimír Palička*

Doporučení pro diagnostiku a léčbu onemocnění štítné žlázy v těhotenství a pro ženy s poruchou fertility

OBSAH

Souhrn

1. Obecný úvod

- 1.1 Proč Guidelines upravujeme pro ČR?
- 1.2 Úvod do problematiky funkčních tyreopatií a těhotenství
- 1.3 Choroby štítné žlázy v graviditě – stručný přehled

2. Funkční tyreoidální testy v graviditě

- 2.1 Změny hladin hormonů v těhotenství
 - 2.1.1 Tyreotropin (TSH)
 - 2.1.2 Volný tyroxin (FT4)
 - 2.1.3 Autoprotilátky
 - 2.1.4 Jodurie
- 2.2 Stanovení referenčních intervalů
 - 2.2.1 Referenční intervaly pro TSH a FT4
 - 2.2.2 Rozhodovací meze – cut off pro Anti-TPO

3. Hypotyreóza

- 3.1 Definice hypotyreózy
- 3.2 Horní mez TSH v těhotenství
- 3.3 Rizika hypotyreózy v těhotenství
 - 3.3.1 Manifestní (overt) hypotyreóza
 - 3.3.2 Subklinická hypotyreóza
- 3.4 Prevence a léčba hypotyreózy v těhotenství a po porodu
 - 3.4.1 Prevence, informovanost
 - 3.4.2 Léčba hypotyreózy v těhotenství
- 3.5 Eufunkční ženy s průkazem protilátek v těhotenství
 - 3.5.1 Riziko rozvoje hypotyreózy v průběhu těhotenství u (dosud) eutyroidních žen s pozitivními Anti-TPO
 - 3.5.2 Riziko porodnických komplikací u (dosud) eutyroidních žen s pozitivními Anti-TPO
 - 3.5.3 Rizika po porodu, poporodní tyreoiditida (PPT)

4. Význam jodu v graviditě

- 4.1 Význam jodu pro lidský organismus a jeho zdroje
- 4.2 Mění těhotenství potřebu jodu?
- 4.3 Jaké jsou důsledky nedostatku jodu v těhotenství?
- 4.4 Jak lze hodnotit zásobení jodem v těhotenství?
- 4.5 Jak řešit optimalizaci přívodu jodu v těhotenství?

5. Tyreotoxikóza, tranzientní gestační hypertyreóza

- 5.1 Úvod
- 5.2 Hypertyreóza (Tx) v graviditě
 - 5.2.1 Klinický obraz
 - 5.2.2 Laboratorní nálezy u Tx v graviditě
 - 5.2.3 Léčba Tx v graviditě
 - 5.2.4 Prekoncepční odhalení rizika Tx a preventivní opatření
- 5.3 Tranzientní gestační hypertyreóza (TGH)
 - 5.3.1 Klinický, laboratorní a sonografický obraz TGH
 - 5.3.2 Léčba TGH
- 5.4 Endokrinní orbitopatie v graviditě

6. Ženy s infertilitou, po potratu a po předčasném porodu

- 6.1 Úvod
- 6.2 Ženy se zvýšeným rizikem infertility, potratů a předčasných porodů z důvodu tyreopatií
- 6.3 Léčba tyreopatií u žen s infertilitou, po potratu či předčasném porodu
- 6.4 Faktory, které u žen s infertilitou, po potratu či předčasném porodu podporují zahájení léčby hraničních stavů levotyroxinem

7. Struma, uzlová přestavba ve štítné žláze

- 7.1 Struma difúzní
- 7.2 Struma uzlová, uzly ve štítné žláze
 - 7.2.1 Gravidita a uzlová přestavba
 - 7.2.2 Vyšetření uzlů v graviditě
 - 7.2.3 Postup při nález (benigního) uzlu
 - 7.2.4 Malignita na základě FNAB u gravidních žen
 - 7.2.5 Nejistý – hraniční suspektní výsledek FNAB

8. Karcinom štítné žlázy v graviditě

- 8.1 Výskyt
- 8.2 Ovlivňuje gravidita růst karcinomu tyreoidy?
- 8.3 Jak řešit průkaz (podezření) papilárního karcinomu?
- 8.4 Gravidita u ženy, již dříve léčené pro diferencovaný karcinom tyreoidy
- 8.5 Hladiny TSH u ženy, která prodělala léčbu pro diferencovaný karcinom tyreoidy, při plánování gravidity a v jejím průběhu
- 8.6 Zvyšuje gravidita riziko recidivy diferencovaného tyreoidálního karcinomu?
- 8.7 Operace štítné žlázy v graviditě u eufunkční ženy

9. Screening tyreopatií v graviditě

- 9.1 Úvod
- 9.2 Rozsah screeningu – univerzální nebo cílený?
- 9.3 Načasování screeningu
 - 9.3.1 Těhotenský screening
 - 9.3.2 Prekoncepční screening
- 9.4 Co v rámci screeningu vyšetřovat?
- 9.5 Jak postupovat při pozitivním screeningu?
- 9.6 Finanční zajištění screeningu

Seznam zkratk

Souhrn

Vzhledem ke specifitě tyreoidálních onemocnění považuje Česká endokrinologická společnost ČLS JEP za nezbytné se k doporučením vydaným ATA, ETA a Endocrine Society [1-4] stručně vyjádřit a připojit některé připomínky ohledně diagnostiky a léčby v České republice při respektování obecných principů zmíněných doporučení.

- Tyreoidální laboratorní parametry v graviditě (kapitola 2)

Pro základní zhodnocení stavu štítné žlázy v těhotenství se doporučuje vyšetření tří parametrů: TSH, FT4 a Anti-TPO protilátek. Tyreotropní aktivita choriového gonadotropinu (hCG) vede ke snížení hladiny TSH na začátku těhotenství a horní hranice pro TSH v graviditě je tedy nižší než pro běžnou populaci. Normy pro TSH jsou specifické pro každý trimestr.

Stanovení FT4 umožňuje zjistit množství biologicky dostupného tyroxinu pro těhotnou ženu i její plod, nicméně výsledky vyšetření FT4 jsou ovlivněny použitou metodou a jsou nejméně spolehlivým tyreoidálním markerem v těhotenství.

Vyšetření Anti-TPO protilátek je nezbytným podkladem pro hodnocení stavu štítné žlázy - u žen s jejich pozitivitou se může v těhotenství rozvinout některá z poruch štítné žlázy a také naznačuje nebezpečí výskytu poporodní tyreoiditidy. Jejich přítomnost může být i bez poruchy funkce štítné žlázy asociována s neplodností, opakovaným potrácením, selháním metod asistované reprodukce a snad i dalšími dopady na plod.

Vyšetření protilátek proti TSH receptoru (TRAK) slouží k diferenciální diagnóze hypertyreózy a posouzení dynamiky GB-toxikózy; tyto protilátky přecházejí transplacentárně.

- Hypotyreóza (kapitola 3)

Pro vstupní diagnózu hypotyreózy v těhotenství využíváme stanovení TSH a FT4. Horní mez normálního rozmezí TSH je závislá na trimestru, populaci a metodě. Jako zjevnou (overt) hypotyreózu označíme zvýšení TSH nad horní mez spolu se snížením FT4, jako subklinickou hypotyreózu označíme zvýšení TSH při normálním FT4. Vyšetření Anti-TPO je neoddelitelnou součástí vyšetření k určení etiologie i perspektivy choroby. Ženy v reprodukčním věku, ať již léčené pro hypotyreózu nebo pouze sledované pro chronickou lymfocytární tyreoiditidu, mají být poučeny o vyšších nárocích na tyreoidální hormony v těhotenství. Mají vyhledat svého endokrinologa před plánovaným otěhotněním nebo co nejdříve po zjištění těhotenství. Žena, již léčená pro hypotyreózu, má po zjištění těhotenství zvýšit dávku levotyroxinu průměrně asi o 30% a navštívit ihned endokrinologa, který má stávající nebo zahájenou dávku levotyroxinu upravovat na cílový TSH: před graviditou na TSH méně 2,5 mIU/l, v graviditě na TSH pro příslušnou metodu a trimestr. U žen s nově diagnostikovanou hypotyreózou v graviditě a žen se subklinickou hypotyreózou a pozitivními Anti-TPO protilátkami a/nebo UZ nálezem postupujeme obdobně. Je-li pouze mírná elevace TSH (negativní protilátky a normální nález na UZ tyreoidy), není chybou zahájit léčbu podle výše uvedených zásad (potenciální benefit a nevýznamné riziko) ani léčbu nezahajovat a pouze sledovat vývoj; rozhodnutí bude záviset na preferenci endokrinologa. Síla tohoto doporučení je menší pro absenci jednoznačných důkazů. Pro léčbu izolované hypotyroxinémie (TSH v normě, protilátky negativní) nejsou důkazy a tedy léčba není indikována, pokud však pacientka trpí nedostatkem jodu, je nutné zajistit doporučené denní dávky. Sledování těhotných žen s hypotyreózou (zjevnou i subklinickou, léčené i neléčené) má být do 20. gestačního týdne každé cca 4 týdny (např. 5., 10., 14. a 20. týden ± 1 týden) vyšetřením TSH v krvi, případně mezi 28. a 32. gestačním týdnem. Tento termín může být při stabilizaci stavu vyne-

chán. Nutné je vyšetření TSH 4-6 týdnů po porodu a dále 3, 6, 12 a 24 měsíců po porodu., aby se zachytil případný rozvoj poporodní tyreoiditidy u žen s chronickou lymfocytární tyreoiditidou či aktivita Gravesovy-Basedowovy choroby, a aby se upravila dávka substituční léčby. Substitute se po porodu obvykle vrací na dávku před otěhotněním.

- Eufunkční ženy s průkazem protilátek (kapitola 4)

Léčba eufunkčních žen s průkazem protilátek a s normálním vstupním TSH je spíše doporučena, a to malou dávkou levotyroxinu (50 µg/den). Léčba má zabránit rozvoji hypotyreózy během těhotenství, cílové hodnoty TSH jsou jako u žen s prokázanou hypotyreózou. Kontroly, obdobně jako péče po porodu, jsou stejné jako u žen s hypotyreózou. Asi polovina eufunkčních žen s průkazem protilátek a s normálním vstupním TSH progreduje po porodu do trvalé hypotyreózy.

- Zásobení jodem v graviditě (kapitola 4)

Stavům zásobení jodem u gravidních žen v české populaci bude nutno věnovat i v budoucnosti zvýšenou pozornost vzhledem k tomu, že nedostatečný přívod jodu v těhotenství ohrožuje dvě generace – těhotnou ženu i vyvíjející se plod. Nepříznivé důsledky pro plod by znamenaly snížení kvality budoucích generací. U všech těhotných a kojících žen se doporučuje plošná suplementace jodem v dávce 100 µg elementárního jodu denně nad rámec běžného příjmu v potravě.

- Tyreotoxikóza (kapitola 5)

Tyreotoxikóza v graviditě se vyskytuje nejvýše u 0,5% těhotných žen. Klinické projevy se v podstatě neliší od běžné populace, vzhledem k věku převažuje výskyt autoimunitních forem (GB choroba) nad jinými etiologiemi. Onemocnění je nutno odlišit od přechodné gestační suprese TSH v 1. trimestru gravidity (tranzientní gestační hypertyreóza netyreoidálního původu), která je vyvolána zvýšenou produkcí tyreostimulačních látek (hCG) v placentě. Diagnostika tyreotoxikózy se opírá o vyšetření TSH a FT4 (eventuálně FT3) a TRAK, případně ultrazvuk štítné žlázy. Základem léčby je podávání tyreostatik, v 1. trimestru propylthiouracylu (CAVE hepatální léze) a pak methimazolu. Aktivita tyreotoxikózy v graviditě obvykle při léčbě spontánně klesá, po porodu často stoupá. Podávání nízkých a středních dávek tyreostatik neovlivňuje nepříznivě průběh gravidity, vývoj plodu ani nitroděložně ani po porodu v rámci kojení. V budoucnosti bude optimálním postupem v rámci plánovaného rodičovství odhalit tyreotoxikózu již před počatím a účinně jí zaléčit. Uvedené zásady odpovídají doporučení ATA + ETA, v detailech se postupy doporučené různými experty mohou lišit. Není plné shody na podávání jodu u těhotných žen s tyreotoxikózou, v ČR ho doporučujeme vzhledem k nutnosti zajistit dostatek jodu pro optimální vývoj plodu. Endokrinní orbitopatie v graviditě je vzácná a léčebné postupy se příliš neliší od běžné populace. Jde-li o aktivní zrak ohrožující EO je na místě podání vysokých dávek kortikoidů (methylprednisolon) v intravenózních pulsech. Kumulativní dávka by měla být co nejmenší při zachování účinnosti. Obvykle je snaha podávat dávky menší než u netěhotných - kumulativně do 2-3g během 6 týdnů. Vzácně, není-li patrný efekt, je třeba přistoupit i k chirurgické dekompresi orbity.

- Postup u žen s infertilitou, po potratu a po předčasném porodu (kapitola 6)

Vyšetření TSH a Anti-TPO v krvi by mělo být provedeno u všech žen s infertilitou, po potratu, předčasném porodu či u žen s jinak komplikovaným těhotenstvím, které plánují nebo usilují o další graviditu. Podrobný diagnostický a léčebný postup je uveden v textu kapitoly 6.

- Struma a tyreoidální uzly (kapitola 7)

Péče o ženy se strumou a uzly ve štítné žláze v graviditě je obdobná jako u žen netěhotných, s tou výjimkou, že s určením etiologie spěcháme až urgentně, dle charakteru uzlu. V oblastech s mírným jodovým deficitem nebo hraničním jodovým zásobením mají již preexistující uzly v průběhu gravidity tendenci ke zvětšení, a nový uzol se objeví asi u 15% žen. Léčba vychází z etiologie, snažíme se respektovat přání nemocné, supresní léčba v graviditě není vhodná. Při nejistém nález (Bethesda III. a IV.) je možné operaci odložit po porodu, obdobně jako při FNAB nález mikrokarcinomu. Hladina TSH má být spíše na dolní hranici normálu. Pokud si žena přeje řešení dříve, je operace možná ke konci 2. trimestru. Substituci je nutné zahájit ihned po operaci.

- Karcinom štítné žlázy (kapitola 8)

Při silném podezření či průkazu karcinomu ve štítné žláze je léčba gravidních stejná jako u netěhotných – operace. Léčba radiojodem následuje po porodu, případně po ukončení kojení. Většina studií nepovažuje graviditu za zhoršující riziko, a tudíž operace může být odložena. Autoři doporučení pro ČR však spíše podporují radikálnější variantu. Doporučení ATA 2011 se opírají pouze o studie retrospektivní, nikoliv randomizované. Operace by se určitě měla ještě v graviditě uskutečnit u medulárního karcinomu a tumoru s metastázami. Operace štítné žlázy ve 2. trimestru v rukou zkušeného chirurga není spojena se zvýšeným rizikem matky či plodu, nicméně indikace k operaci musí být opřena o jasný nález. Operaci mikrokarcinomu je možné odložit po porodu.

- Screening (kapitola 9)

Screening tyreopatií by měl být proveden u všech žen v prvním trimestru gravidity a/nebo u žen plánujících graviditu. Za současných podmínek, dle doporučení ATA, ETA a ve shodě s doporučením ČES ČLS JEP v České republice by měl registrující gynekolog u všech těhotných žen zhodnotit rizikové faktory a při pozitivitě kteréhokoliv údaje provést vyšetření TSH a Anti-TPO. Rizikové faktory jsou následující: pozitivní údaje z rodinné či osobní anamnézy (prodělané nebo aktuální tyreopatie, autoimunitní choroby - především DM 1. typu), příznaky tyreoidální dysfunkce, struma, potrat nebo předčasný porod v anamnéze, infertilita, prodělané ozáření hlavy a/nebo krku, současné i dřívější užívání amiodaronu, lithia, aplikace cytokinů, nedávná aplikace jodového RTG kontrastu, známá pozitivita Anti-TPO, obezita s BMI ≥ 40 kg/m², informace o tom, zda žena nežije v oblasti se středním či těžkým jodovým deficitem a věk nad 30 let [2-4]. Nicméně při cíleném screeningu unikne 30-50% žen diagnóze. Proto ČES ČLS JEP dává přednost zavedení univerzálního laboratorního screeningu (TSH a Anti-TPO), který se však dosud nepodařilo dojednat. Pokud není prokazatelný rizikový ukazatel, je možné požádat o vyšetření v rámci nadstandardu. Ženy by měly být o možnosti screeningu informovány u svého gynekologa a praktického lékaře. Screening by měl být realizován ideálně v 5.-6. týdnu, eventuálně kdykoli později, pokud není proveden v této časné fázi těhotenství, nejpozději však v rámci screeningu vrozených vývojových vad a HBsAg v 1. trimestru (9.-11. týden gravidity).

1. Obecný úvod

Límanová Z.

Hormony štítné žlázy zasahují do fertility ženy, průběhu gravidity, vývoje plodu i do vývoje dítěte v pozdějším období. Je nepopiratelnou skutečností, že tyroxin (T4) a trijodotyronin (T3) jsou nezbytné jak pro období prekoncepční (jejich syntéza je závislá na přísunu jodu), tak pro oplodnění (u hypotyreózy dochází vlivem zvýšené hladiny prolaktinu – PRL k poruchám fertility), a dále po celé období gravidity až po několik měsíců po porodu. Plod je zcela závislý na produkci tyroxinu matkou především do 12.-16. týdne, poté začínají tyreocyty plodu vlastní syntézu T4, ale matčina dodávka T4 je důležitá po celé období gravidity.

Poznatky o vztazích štítné žlázy a gravidity se v posledních 20 letech výrazně rozšířily. Důsledkem snahy o sjednocení diagnostiky a léčby jednotlivých onemocnění v graviditě byly pod záštitou The Endocrine Society publikovány v r. 2007 v JCEM [1]. Tato obsáhlá práce byla společným dílem expertů z prestižních světových pracovišť. V r. 2011 publikovala ATA svoje guidelines [2, 3], které v některých detailech rozšiřují či zpřesňují doporučení z r. 2007, další aktualizovaná doporučení byla publikována v r. 2012 [4].

1.1 Proč Guidelines upravujeme pro ČR?

Vzhledem ke specifitě tyroidálních onemocnění považuje Česká endokrinologická společnost ČLS JEP za nezbytné se k těmto doporučením stručně vyjádřit a připojit některé připomínky ohledně diagnostiky a léčby v České republice při respektování obecných principů doporučení ETA, ATA a Endocrine Society.

Vznik onemocnění štítné žlázy i jeho průběh je závislý především na několika zásadních okolnostech: genetické výbavě včetně imunologických vlastností jedince, stavu zásobení jodem, a na dalších zevních faktorech. Tyto okolnosti jsou natolik specifické, že nelze jednotné postupy akceptovat všeobecně bez znalosti a respektování regionálních specifíků, do kterých patří i zvyklosti zdravotnictví, možnosti prevence i přístupu jedince k jeho zdraví. Významnou roli hrají i tradice v mateřství, zvyklosti při péči o těhotnou ženu, a v neposlední řadě i mezioborová spolupráce zdravotníků. V ČR (ale i v Evropě) zaznamenáváme v posledních 20 letech výrazné změny v přístupu ke zdravotnickým zvyklostem: mizí paternalistický přístup zdravotníků, občané se více zajímají o své zdraví a chtějí více rozhodovat o diagnostice i léčbě, díky všeobecné komunikaci a sdělovacím prostředkům se občané více vzdělávají v otázce zdraví a nemoci. Věk těhotných se posunul na nyníšších v průměru 32 let, těhotenství je většinou plánované, a je umožněno nejen ženám vyšších věkových skupin, ale i ženám se zdravotními riziky (po onkologické léčbě, po transplantaci orgánů). Na druhé straně však se snižuje fertilita nejen žen, ale i mužů, a umělé oplodnění podstupuje každým rokem vyšší počet žen - nyní cca 6-8% ze všech těhotenství. Mezi těmito ženami je 10-20% žen s tyreopatiemi. Zpřesnily se normy pro laboratorní ukazatele v jednotlivých trimestrech gravidity, rozšiřují se poznatky

o rizikových faktorech, které negativně dopadají na vztah tyreoidy a gravidity. Do této skupiny patří i důsledky autoimunity štítné žlázy. V graviditě a po porodu je žena vystavena významným změnám nejen hormonálním, ale i imunologickým, metabolickým a hemodynamickým. Je tedy zřejmé, že jde o mezioborovou spolupráci, proto se do péče o těhotnou ženu zapojují vedle gynekologů, porodních asistentek a gynekologických sester nejen praktičtí lékaři, ale i další odborníci. Důležité místo samozřejmě patří endokrinologům. Na základě jejich široké diskuze, s ohledem na velmi složitou problematiku těhotenství a nedostatek randomizovaných kontrolovaných studií (RCT) - nebude v argumentaci léčby hraničních stavů bezvýhradně splněn požadavek „evidence-based“.

1.2 Úvod do problematiky funkčních tyreopatií a těhotenství

Úzký vztah gravidity a činnosti tyreoidy je po staletí znám. Dříve se zájem soustředil především na otázku příjmu jodu - tento problém přetrvává na zeměkouli dosud pro více než 2 miliardy lidí. Česká republika patří do oblastí spíše s přiměřeným zásobením jodu [5] a struma z nedostatku jodu je dnes ojedinělým nálezem, nicméně význam jodu v graviditě je nadále nutné připomínat a suplementace jodem po celou dobu gravidity je žádoucí. V prvních týdnech po početí se potřeba jodu zvyšuje, zvyšuje se i průtok krve tyreoidou, jod se více vychytává a je k dispozici pro zvýšenou syntézu tyroxinu. Pokud je zásobení jodem dostatečné, tyreoida se zvětšuje jen mírně. V oblastech s mírným nedostatkem jodu se tyreoida zvětšuje o 10-20% a v oblastech s deficitem jodu až o 40% svého objemu. Přesto, že v ČR není závažnější deficit jodu, je vyšší potřebu jodu v graviditě nutné pokrýt zvýšením jeho příjmu. Vlivem elevace estrogenů se v játrech zvyšuje syntéza thyroxine binding globulinu (TBG) a zvyšuje se hladina celkového T4, hladina volného T4 (FT4) má tendenci přechodně klesat. Placenta uplatňuje svůj vliv na štítnou žlázu prostřednictvím choriového gonadotropinu (hCG), který má významnou synergickou TSH aktivitu, tím se přechodně TSH zpětnovazebně v 1. trimestru snižuje. Zdravá žláza zvyšuje produkci T4 a nastává nová rovnováha. Pokud není tyreoida plně funkční (je např. postižena autoimunitou) a není schopná přiměřeně na požadavky reagovat zvýšením produkce T4, vzniká subklinická až plně rozvinutá hypotyreóza [1-3, 6, 7]. Diskuze o aktivním vyhledávání těhotných žen s poruchou funkce tyreoidy byla v ČR zahájena již v r. 2004 [8]. Na základě zkušeností s vyšetřením tisíců těhotných žen v 1. trimestru gravidity v několika centrech v ČR, při kterém bylo diagnostikováno nejméně 5% žen s elevací TSH a 8-15% s pozitivními protilátkami [9,10], jsou nyní předkládána doporučení, vedoucí k řešení onemocnění štítné žlázy v graviditě. Diskuze o zavedení univerzálního screeningu je uvedena v kapitole 11. Následující doporučení může být podnětem k další mezioborové diskuzi.

1.3 Choroby štítné žlázy v graviditě - stručný přehled

Nejčastějším endokrinním onemocněním žen, a to i v graviditě, je autoimunitní postižení štítné žlázy. Do této skupiny patří především chronická lymfocytární

tyreoiditida (CLT) a choroba Gravesova-Basedowova (GB). Zatímco obávaná komplikace v graviditě tyreotoxikóza nejčastěji GB typu postihuje asi 0,1-0,4 % žen, CLT je diagnostikována při cíleném vyhledávání u 10-15 % většinou asymptomatických žen. CLT nemusí být primárně provázena funkční poruchou, ale při zátěži – v graviditě – se subklinická až klinická hypothyreóza často rozvine (u více než 20 %). Následky u těchto žen se mohou manifestovat i po porodu v podobě poporodní tyreoiditidy (PPT). Jak zvýšená, tak snížená funkce štítné žlázy může způsobit těhotné ženě i dítěti (plodu) značné komplikace. Je prokázáno, že důsledkem snížené činnosti tyreoidy, tj. jak rozvinuté, tak subklinické hypothyreózy, jsou častější potraty, předčasné porody, abrupce placenty, malá porodní váha, častější neonatální respirační distress. Negativní dopad na IQ a psychomotorický vývoj dětí, narozeným matkám s hypothyreózou, byl jednoznačně prokázán [1-3], negativní důsledky u dětí matek se subklinickou hypothyreózou (SH) nebo s prokázanými Anti-TPO sice prokázány nebyly jednoznačně [11], ale některé publikace tuto skutečnost podporují [12]. O závěrech Lazarusovy práce se nyní živě diskutuje [13,14]. Problematika psychomotorického vývoje dětí je totiž nejen multifaktoriální, ale velice složitá z metodologického a etického hlediska, proto vyžaduje další seriózní studie, na kterých se musejí podílet odborníci z různých oborů. Význam tyroxinu pro vývoj nervové soustavy plodu je nepochybný [15,16]. Gynekologické komplikace u žen s AITD nezávisle na funkci štítné žlázy, především častější potracení, je ověřeno v řadě studií (viz kapitola 7).

2. Funkční tyreoidální testy v graviditě

Springer D.

Vzhledem ke zvýšené potřebě tyreoidálních hormonů v těhotenství a adaptaci štítné žlázy na tyto nároky, nastávají změny v hladinách tyreoidálních markerů. To vyvolává potřebu určení specifických referenčních intervalů především pro TSH a FT4, a to ideálně pro každý trimestr těhotenství zvlášť. Pro základní zhodnocení stavu štítné žlázy v těhotenství se doporučuje vyšetření tří parametrů: TSH, protilátka proti tyreoidální peroxidáze (Anti-TPO) a FT4. Výsledky jsou obvykle k dispozici během několika hodin, u méně frekventovaných metod (Anti-TPO - protilátka proti TSH receptoru neboli TRAK neboli Anti-TSH-R) maximálně do několika dnů.

Při hodnocení laboratoře se za velmi významné považuje zajištění kvality vyšetření a mezilaboratorní srovnatelnosti, uvádění ověřených referenčních intervalů i rozhodovacích mezí pro těhotenství a z interpretačního hlediska potom znalost možných analytických a biologických interferencí [17].

2.1 Změny hladin hormonů v těhotenství

Choriový gonadotropin (hCG) je ve vysoké koncentraci stimulatorem tvorby tyreoidálních hormonů prostřednictvím receptorů pro TSH. Zvýšení hladiny hCG vede ke zvyšování produkce mateřského T4 a T3 v době kritického vývoje mozkové kůry v prvních týdnech vývoje plodu.

Hladina T3 se může v průběhu třetího trimestru zvyšovat asi na 1,5 násobek normálních hodnot. Pro základní diagnostiku toto vyšetření není nutné. V prvním týdnu po porodu klesají hladiny T3 opět k normálu. Stanovení FT4 umožňuje zjistit množství biologicky dostupného tyroxinu pro těhotnou ženu i její plod. Hladina FT4 je ovlivněna především dostatečným množstvím jodu a týdnem těhotenství. Nicméně laboratorní výsledek může být ovlivněn i použitou vyšetřovací metodou a závisí také na tom, zda poměr vázané a volné frakce tyroxinu in vivo zůstane zachován i během analýzy. Vyšetření FT4 v těhotenství je považováno v současné době za nejméně spolehlivý tyreoidální parametr (pokud se nepoužije dysekvilibrační dialýza, což je metoda, která se u nás nepoužívá vzhledem k její náročnosti a ceně). Výsledek vyšetření celkového T4 v graviditě je ovlivněn vazebnými bílkovinami (TBG), proto doporučujeme posuzovat FT4, pokud informaci o jeho hladině potřebujeme. Stanovení celkového tyroxinu a v graviditě následně násobení koeficientem 1,5 tak, jak používají některé země [4], nepovažujeme v ČR v běžné praxi za přínosné. O významu nálezu izolovaného snížení FT4 se diskutuje a je tomu věnována zvláštní kapitola 3.6. Zvýšení FT4 v graviditě (spolu se supresí TSH) jednoznačně podpoří diagnózu hypertyreózy.

2.1.1 Tyreotropin (TSH)

Stanovení TSH má při diagnostice poruch funkce štítné žlázy klíčovou úlohu. Tyreotropní aktivita hCG vede na začátku těhotenství ke snížení hladiny TSH. K největšímu poklesu TSH dochází v prvním trimestru, kdy je hladina hCG nejvyšší. Během těhotenství se sice TSH zvyšuje, ale přesto zůstává jeho referenční interval po celé těhotenství nižší než pro běžnou populaci. Vzhledem k tomu, že hladina hCG je u vícenásobné gravidity vyšší, je i snížení TSH u vícenásobných gravidit výraznější. Malé procento žen může mít v 1. trimestru velmi nízké hladiny TSH (< 0,01 mIU/l), zvláště při hyperemesis gravidarum, a přesto jde o zdravé těhotenství. Izolovaná suprese TSH není spojená se zhoršeným výsledkem těhotenství a není považována za nebezpečnou (viz kapitola 6).

Stanovení TSH se považuje za nejpřesnější obraz stavu štítné žlázy v těhotenství. Existují významné etnické rozdíly v hladinách TSH. Černošky a Asiatky mají v průměru o 0,4 mIU/L nižší TSH než bělošky, a to i v těhotenství. TSH má diurnální variabilitu s pulzní sekrecí, maximum je mezi půlnocí a 4. hodinou ranní, minimum mezi 7.-13. hodinou. Odběry krve je vhodné provádět mezi 7.-13. hodinou. Denní hodnoty mohou být až poloviční proti nejvyšší noční koncentraci. Referenční intervaly pro TSH se mohou lišit podle používané analytické metody (viz Tabulka 1).

2.1.2 Volný tyroxin (FT4)

Hladina celkového tyroxinu je v graviditě výrazně ovlivňována koncentrací sérových proteinů, proto se dává přednost stanovení FT4, jehož hladina nejlépe odráží skutečný funkční stav tyreoidálního metabolismu. Během 4-6 týdnů po otěhotnění se zvyšuje TBG – asi o 50 %, a tím i celkový tyroxin. Hladina FT4 v séru se během těhotenství mírně snižuje.

Tabulka 1. Srovnání referenčních intervalů pro TSH a FT4 pro běžnou populaci a pro těhotné v 1. trimestru – hodnoty podle doporučení jednotlivých výrobců imunodiagnostik a stanovené ve studii VFN a 1. LF UK v Praze*

Analytický systém	Princip metody	TSH [mU/l]		FT4 [pmol/l]	
		výrobce pro běžnou populaci	stanovený ref. int. pro těhotné v 1. trim.	výrobce pro běžnou populaci	stanovený ref. int. pro těhotné v 1. trim.
výrobce					
Architect i2000SR Abbott Laboratories	Chemiluminiscenční imunoanalýza	0,35 - 4,94	0,21 - 3,29	9,0 - 19,0	11,5 - 17,5
UniCel DxI 800 Beckman Coulter	Enzymoimunoanalýza s chemiluminiscenční detekcí	0,34 - 5,6	0,19 - 3,34	7,86 - 14,4	7,9 - 12,9
Immulite 2500 Siemens Healthcare Diagnostics	Enzymoimunoanalýza s chemiluminiscenční detekcí	0,4 - 4,0	0,16 - 2,85	11,5 - 22,7	10,1 - 16,2
Advia Centaur Siemens Healthcare Diagnostics	Chemiluminiscenční imunoanalýza	0,55 - 4,78	0,2 - 3,63	11,5 - 22,7	10,5 - 18,1
Modular E170 Roche Diagnostics	Elektrochemiluminiscenční imunoanalýza	0,27 - 4,2	0,23 - 3,82	12,0 - 22,0	11,2 - 18,3
AIA 2000 Tosoh Bioscience	Enzymoimunoanalýza s fluorescenční detekcí	0,41 - 4,01	0,17 - 2,81	10,6 - 21,0	9,6 - 16,9
RIA / IRMA Immunotech Beckman Coulter	Radioimunoanalýza	0,17 - 4,05	0,24 - 3,92	11,5 - 23,0	12,0 - 18,4

*nepublikovaná studie Springer 2012

Zvýšená hladina vazebných proteinů v těhotenství může přinést problém s imunoanalytickým stanovením FT4. Jako nejvhodnější metoda se pro stanovení sérového FT4 v těhotenství považuje stanovení tyroxinu v dialyzátu nebo ultrafiltrátu s využitím on-line extrakce a LC/MS/MS). Tyto postupy jsou ale zatím velmi drahé a časově náročné. Pro stanovení FT4 se proto používají imunoanalytické techniky, které má laboratoř k dispozici a které jsou pro běžnou diagnostiku v těhotenství dostačující. Nicméně hodnocení samotné hladiny FT4 v graviditě, pokud je v referenčním intervalu, se ukázalo jako mírně problematické (viz kapitola 7). Pro FT4 jsou vyžadovány trimestr specifické referenční intervaly. U žen, léčených levotyroxinem, je doporučen odběr před užitím léku (falešně zvýšené hodnoty FT4 až 4 hod po užití).

2.1.3 Autoprotilátky

Protilátky proti tyreoidální peroxidáze a tyreoglobulinu

Protilátky proti tyreoglobulinu (Anti-Tg) se v těhotenství běžně nevyšetřují, využívají se pouze při sledování nádorového markeru - tyreoglobulinu. Doporučení ATA [1] tyto protilátky pro diagnostiku v těhotenství nevyzdvihuje.

Naproti tomu stanovení Anti-TPO protilátek v těhotenství je velmi důležité, protože tyto protilátky jsou markerem autoimunitního procesu probíhajícího ve štítné žláze. Přítomnost Anti-TPO protilátek v těhotenství informuje o riziku dalších komplikací během těhotenství i po porodu (viz kapitoly 4 a 7).

Autoprotilátky jsou heterogenní, v graviditě mohou přechodně klesat a při poporodní tyreoiditidě se naopak mohou zvyšovat. Jednotlivé typy produkovaných

protilátek mají různou vazebnou schopnost s antigeny používanými v imunoanalytických metodách. Mezi výsledky, získanými různými metodami u konkrétních pacientů můžeme nalézt velké rozdíly, a to v řádech desítek až stovek procent. Je proto vhodnější posuzovat jejich hladinu spíše semikvantitativně – negativní, mírně pozitivní, vysoce pozitivní apod.

Eutyroidní ženy s pozitivními Anti-TPO protilátkami by měly být během těhotenství rovněž sledovány, zda nedochází k rozvoji hypotyreózy (viz kapitoly 4 a 7).

Protilátky proti TSH receptoru (TRAK, Anti-TSH, TRAb)

Autoimunitní protilátky proti TSH receptorům obsaženým v buněčných membránách buněk štítné žlázy, označované souhrnně TRAK, mohou podle účinku na TSH receptor blokovat nebo stimulovat činnost štítné žlázy. S vysokou citlivostí (95 %) a specificitou (98 %) poskytují informaci o etiologii tyreotoxikózy, jejich hladiny korelují s aktivitou i tíží onemocnění. Stanovení TRAK se indikuje při diferenciální diagnostice hypertyreózy (autoimunitního a neautoimunitního původu, rezistence vůči tyreoidálním hormonům) a sledování jejich léčby. Jsou hlavním markerem GB tyreotoxikózy. Remise je provázena poklesem a opětným vzestup těchto protilátek ukazuje na relaps choroby. Hladina TRAK není ovlivněna graviditou, ale aktivitou choroby, která se během těhotenství obvykle zklidňuje. Vzestup hladiny TRAK po porodu odráží reaktivaci GB choroby. U fertálních žen s GB tyreotoxikózou se mohou nacházet cirkulující TRAK i po totální tyreidektomii a mohou přecházet transplacentárně a velmi vzácně mohou vyvolat dysfunkce štítné žlázy jak postnatálně, tak in utero [18].

U těhotných, které mají v anamnéze dřívější nebo současný výskyt GB tyreotoxikózy, se doporučuje vyšetřit TRAK i během těhotenství, a to mezi 20. a 24. týdnem těhotenství.

2.1.4 Jodurie

Jod je nezbytný pro tvorbu hormonů štítné žlázy a jeho potřeba se během těhotenství zvyšuje. Pro stanovení saturace jedince jodem je možné vyšetřit koncentraci jodidového aniontu v moči (jodurii). Nejuzívanější laboratorní metodou pro stanovení jodurie je Sandell Kolthoffova metoda založená na fotometrickém stanovení Ce^{3+} iontů, které vznikají v redox systému Ce^{4+}/As^{3+} katalytickým působením jodidových aniontů. Fotometrickému stanovení předchází mineralizace vzorku v alkalickém prostředí (lze použít i kyselou mineralizaci). Metoda je časově náročná, nepříliš vhodná do současných klinických laboratoří, nově byla vypracována s elektrochemickou detekcí jodidového aniontu. Vyšetření je vzhledem k analytické náročnosti využíváno méně, než by bylo potřebné (viz kapitola 6).

2.2 Stanovení referenčních intervalů

Realizace doporučení IFCC je v případě těhotenských referenčních intervalů nemožná vzhledem k popsané referenční populaci. Přesto je možné držet se alespoň základních požadavků. Jednoznačně se doporučuje uvádět referenční interval jako hodnotu 2,5–97,5 percentilu ve skupině zdravých dobrovolníků, kteří nemají v rodinné ani osobní anamnéze onemocnění štítné žlázy a kteří nemají pozitivní protilátky proti štítné žláze. Obě krajní hodnoty intervalu – referenční limity – se vyjadřují s 90 % intervalem spolehlivosti. Těhotné ženy jsou významnou podskupinou, kterou lze definovat při tvorbě referenčních intervalů, jak je popsáno v doporučeních IFCC.

Je nutné počítat s významnými rozdíly mezi produkty různých výrobců IVD (*in vitro* diagnostika) pro stanovení parametrů funkce štítné žlázy i protilátek, ale může být dosaženo srovnatelnosti číselných hodnot v rámci identických měřících systémů, pokud jsou dodrženy výrobcem předepsané měřící postupy. Norma ISO 15189, podle které je akreditována většina českých laboratoří, ukládá klinickým laboratořím periodicky prověřovat referenční intervaly.

2.2.1 Referenční intervaly pro TSH a FT4

Hladina TSH v prvním trimestru je fyziologicky snižena (vliv hCG). Pro těhotné v jodově dobře zásobených oblastech byly stanoveny pro TSH zvláštní referenční intervaly, které se však liší podle užívané metodiky stanovení. V Tabulce 2 jsou data z doporučení ATA.

Tabulka 2. Orientační referenční intervaly pro jednotlivé trimestry v těhotenství podle doporučení ATA 2011 [1]

	1. trimestr	2. trimestr	3. trimestr
TSH (mIU/l)	0,1 - 2,5	0,2 - 3,0	0,2 - 3,0
FT4 (pmol/l)	10,7 - 16,3	9,16 - 13,5	9,30 - 13,7

Pro FT4 vychází v prvním trimestru rozmezí hladin podobně jako pro běžnou populaci. Ve 2. a 3. trimestru jsou hodnoty nižší. Referenční interval pro FT4 se opět liší podle metod, ale interpretace vyžaduje zvláštní referenční intervaly pro těhotenství. Počítá se jako 95% interval.

Je třeba počítat s tím, že imunoanalytické vyšetření FT4 je v těhotenství nejméně spolehlivým tyreoidálním parametrem a výsledek může ovlivnit i změna vazebných proteinů v graviditě. Rámcově lze říci, že dolní hranice referenčního intervalu pro TSH je v 1. trimestru nižší minimálně o 0,15 mIU/l a horní hranice přibližně o 1,5 mIU/l, pokud se uvažuje obvyklý referenční interval udávaný výrobcem pro běžnou populaci 0,4-4,0-5,0 mIU/l. O přesné hranice pro různé trimestry se vedou nadále diskuze.

Pro českou populaci těhotných žen v 1. trimestru byl na základě vyšetření asi 5000 zdravých těhotných žen stanoven referenční interval pro TSH na 0,062–3,67 mIU/l [17]. Další studie, která se podrobně zabývala stanovením referenčních intervalů pro TSH a FT4 různými analytickými systémy, potvrdila jejich vzájemnou odlišnost. Výsledky pro českou populaci těhotných žen v 1. trimestru jsou uvedeny v Tabulce 1.

2.2.2 Rozhodovací meze - cut off pro Anti-TPO

Referenční intervaly pro testy stanovující tyreoidální protilátky by měly být stanoveny na základě vyšetření 120 „normálních“ jedinců, kteří mají TSH v normě, nemají v rodinné ani osobní anamnéze onemocnění štítné žlázy nebo některé autoimunitní onemocnění; osoby s predispozicí k AITD mají být vyloučeny. Optimální je vyšetřit u nich i UZ štítné žlázy. V oficiálním doporučení se předpokládá vyšetření zdravých mladých mužů, pro těhotné by se cut-off pozitivit měl určit ze séra těhotných žen bez viditelné či hmatné strumy s koncentracemi TSH v séru v rozmezí 0,5 – 2,5 mIU/l, bez zátěže autoimunitními chorobami v rodinné a osobní anamnéze (tyreopatie, diabetes mellitus 1. typu, lupus apod.) a pokud možno i s normálním UZ nálezem tyreoidy.

Stanovení rozhodovacího limitu u protilátek je stále metodicky závislé a nelze je plně sjednotit. Pro případ posouzení pozitivit protilátek je možné použít rozhodovací mez používanou pro běžnou populaci. Avšak za klinicky významné lze považovat zvýšení na minimálně dvojnásobek horní hranice normy. Zvýšení menší než dvojnásobek je potřeba zvažovat individuálně a případně dovyšetřit – opakovat odběr, UZ. Absolutní hodnoty Anti-TPO, stanovené různými metodikami, nelze srovnávat, praktičtější je hodnocení semikvantitativní. O významu změn hladin Anti-TPO v průběhu gravidity chybí dostatečné informace (viz kapitoly 4 a 7).

3. Hypotyreóza

Horáček J.

3.1 Definice hypotyreózy

Hypotyreóza v těhotenství je prakticky vždy periferní a její nejčastější příčiny v graviditě jsou chronická lymfocytární tyreoiditida (CLT), nezvýšení substituční dávky

v době zvýšených nároků a relativní nedostatek jodu. Centrální hypotyreóza je v graviditě velice vzácná.

Klasickým laboratorním nálezem je vzestup TSH v séru jako kompenzační reakce na klesající koncentrace periferních hormonů (zpravidla se hodnotí pomocí volného T4, hladina T3 klesá až u těžké hypotyreózy). Subklinická (mírná, latentní) hypotyreóza je charakterizována vyšším TSH při normálních periferních hormonech. V těhotenství je normální rozmezí TSH posunuto níže, navíc existují rozdíly mezi jednotlivými trimestry a populacemi a především mezi různými metodami - viz kapitola 2, tato problematika je též přehledně shrnuta v doporučeních ATA [2]. Diagnóza hypotyreózy v těhotenství se opírá o stanovení TSH. Současné vyšetření Anti-TPO přispěje k určení etiologie onemocnění, v hraničních případech k rozhodnutí o léčbě, a pomůže vyhledat osoby se zvýšeným rizikem poporodní tyreoiditidy (PPT). Pokud je TSH mimo normální rozmezí, je vyšetření volného T4 důležité pro určení hloubky poruchy (plně rozvinutá/subklinická hypotyreóza).

3.2 Horní mez TSH v těhotenství

Stanovení horní hranice „těhotenské normy“ TSH je z praktického hlediska jak pro screening, tak pro diagnózu hypotyreózy v těhotenství kritické. Vyšší hodnoty jsou spojeny s nízkou senzitivitou, a tedy s rizikem nezachycení části reálných případů hypotyreózy (falešná negativita). Naopak nižší hodnoty horní hranice „cut-off“ vedou k falešné pozitivitě (snižují specifitu) a vystavují některé pacientky (bez skutečné hypofunkce) zbytečnému dalšímu vyšetřování i psychickému stresu a nadměrně zatěžují příslušné endokrinologické pracoviště. Pro TSH v 1. trimestru byl již podán důkaz, že i „vyšší normální“ hodnoty (s mediánem 1,48 mIU/l) jsou spojeny se zvýšeným rizikem potratu a úmrtí plodu či novorozence [19]. Horní mez normálního rozmezí TSH je závislá na trimestru, populaci a metodě. Není-li (na základě lokální normativní studie) definována jinak, zdá se na základě publikovaných studií i vlastních zkušeností užitečné aproximovat horní mez TSH v těhotenství jako hodnotu horní hranice normy obvyklé metody pro netěhotné zmenšenou o 1,5 mIU/l. Tzn. pro metody s horní mezí 5,0 mIU/l nastavit „těhotenskou“ normu na 3,5 mIU/l a pro metody s horní mezí 4,0 mIU/l na 2,5 mIU/l (ve shodě s doporučeními ATA [2]).

3.3 Rizika hypotyreózy v těhotenství

3.3.1 Manifestní (overt) hypotyreóza

Manifestní hypotyreóza je spojena se zvýšeným rizikem potratu, předčasného porodu, nízké porodní hmotnosti, gestační arteriální hypertenze a porušeného neuropsychického vývoje dítěte (podrobně v doporučeních ATA [2]).

3.3.2 Subklinická hypotyreóza

Pro subklinickou (mírnou) hypotyreózu byla obdobná rizika rovněž publikována (a jsou koneckonců biologicky plausibilní), ale asociace rizik je méně jednoznačná a zřejmě kvantitativně méně významná [2]. Patrně záleží nejen na vzestupu TSH, ale také na přítomnosti CLT, obvykle dokumentované pozitivitou antityreoidálních protilátek (viz kapitola 4).

3.4 Prevence a léčba hypotyreózy v těhotenství a po porodu

3.4.1 Prevence, informovanost

Jak ženy v reprodukčním věku již léčené pro hypotyreózu levotyroxinem, tak ženy s CLT a dosud normální funkcí štítné žlázy mimo těhotenství (a tedy dosud neléčené), mají být poučeny o vyšších nárocích na tyreoidální hormony v těhotenství (nejlépe slovně i tištěným materiálem) a také o nutnosti zvýšit po dobu gravidity a kojení příjem jodu (bez ohledu na přítomnost CLT a i u žen substituovaných levotyroxinem).

Před plánovaným otěhotněním má endokrinolog upravit TSH na cílové hodnoty < 2,5 mIU/l buď zvýšením dávky, nebo zahájením léčby. Žena má být informována o možném rozvoji poporodní tyreoiditidy (PPT).

3.4.2 Léčba hypotyreózy v těhotenství

Substituční léčba hypotyreózy levotyroxinem je poměrně snadná, levná a bezpečná. Řídíme se hodnotou TSH a v těhotenství se snažíme vyhnout především poddávkování, protože i mírně vyšší TSH je spojeno se zvýšeným rizikem [19] a naopak hodnoty TSH v dolní části rozmezí či mírně pod ním jsou z hlediska vývoje těhotenství bezpečné [20]. Všechna doporučení jsou založena na konsensu odborných společností a vycházejí jednak z asociačních studií, jednak z biologické plausibility vztahu mezi hypotyreózou a některými riziky. Podobně tomu je také u doporučení naší společnosti. *Jednoznačná shoda panuje u manifestní hypotyreózy*, kde je substituční léčba jasně indikovaná [2]. *U subklinické (mírné) hypotyreózy je situace složitější*. Bylo prokázáno snížení incidence některých porodnických komplikací léčbou na úroveň eutyroidních žen [21,22] (viz kapitola 7) a u subklinické hypotyreózy na podkladě CLT je tedy příznivý vliv léčby pravděpodobný. Naopak v jediné dosud publikované intervenční studii nebyl potvrzen příznivý vliv léčby na psychomotorický vliv dítěte [11], jakkoli jsou vysloveny pochybnosti o metodice hodnocení [13,14], a pro spolehlivé závěry bude nutné vyčkat ověření na jiné populaci jinými metodami.

Úprava dávky u žen léčených již před otěhotněním

Činnost normální štítné žlázy se zvyšuje v graviditě přiměřeně zvýšeným nárokům již asi ve 4.-6. gestačním týdnu a stoupá asi do 16.-20. týdne; poté zůstává činnost žlázy poměrně stabilní (plateau) až do porodu [23]. Hypotyreózní ženy léčené již před otěhotněním proto vyžadují asi v 50-85 % zvýšení dávky levotyroxinu od 5.-6. týdne gravidity. Zvýšení je individuální v závislosti na etiologii hypotyreózy (vyšší je obvykle u žen po totální tyreidektomii než u žen s CLT) a upravuje se podle kontrol TSH v uvedených termínech (viz kapitola 3.5.1.). Kontroly jsou nejdůležitější v první polovině těhotenství.

Otěhotní-li léčená žena neplánovaně, pak má vědět, že co nejdříve po zjištění těhotenství má zvýšit dávku levotyroxinu průměrně asi o 30 % (např. za týden vzít 2 denní dávky navíc, tedy 9 dávek místo 7) a co nejdříve vyhledat svého endokrinologa, který má upravit dávku na cílový TSH. Potřeba zvýšení dávky je individuální v závislosti na příčině hypotyreózy a množství zbytko-

vé funkční tyreoidální tkáň (25-50 %). Cílové hodnoty TSH jsou při léčbě levotyroxinem 0,1-2,5 mIU/l pro 1. trimestr, 0,2-3,0 mIU/l pro 2. trimestr a 0,3-3,0 mIU/l pro 3. trimestr (bez ohledu na metodu) ve shodě doporučeními ATA [2].

Postup u žen se sníženou funkční rezervou štítné žlázy (CLT) dosud neléčených

Tyreoida žen s dosud neléčenou eufunkční CLT se zvýšeným nárokům v těhotenství nedokáže přizpůsobit, jak dokládá např. studie Yassa et al. [24], kde u 92 % neléčených žen byly po 4 týdnech zachyceny abnormální hodnoty TSH. Otěhotní-li dosud neléčená žena s CLT neplánovaně, má navštívit endokrinologa, který při této návštěvě po zvážení individuálních okolností zahájí léčbu levotyroxinem, obvykle ve vstupní dávce 50 µg denně a dávku směřuje na cílový TSH. Léčba se zahajuje vždy u žen s TSH v pásmu subklinické/manifestní hypotyreózy pro těhotné ženy (horní hranice normy pro netěhotné ponížena o 1,5 mIU/l). U žen s normálním TSH (normy pro těhotné ženy) a pozitivními Anti-TPO se zahajuje léčba individuálně - obvykle u žen anamnesticky rizikových (potraty/předčasná porody, jiné autoimunitní choroby), u žen s pozitivním nálezem na ultrazvuku či u žen se sníženým volným T4 v krvi. Předpokladem pro správné hodnocení mírných odchylek TSH a racionální indikaci léčby levotyroxinem je dostatečná suplementace jodem (mírná elevace TSH může být způsobena jodovým deficitem).

Léčba nově zachycené manifestní hypotyreózy

Pokud zjistíme v těhotenství manifestní hypotyreózu, je nutné zahájit substituční léčbu levotyroxinem v dávce 75-100 µg (event. 1,5 µg/kg) denně neprodleně s cílem dosáhnout normy TSH pro příslušný trimestr co nejdříve (viz kapitola 3.2).

Kontroly v průběhu gravidity

Těhotná žena s hypotyreózou (manifestní i subklinickou) i eufunkční s přítomností protilátek, má být sledována vyšetřením TSH časně po potvrzení těhotenství (5.-6. týden) a dále v 10., 14. a 20. týdnu (\pm 1 týden). Koncentrace TSH mají být udržovány v normě pro těhotné ženy. Poté při stabilizaci stavu stačí další vyšetření TSH po šestinedělí, event. může být v případě pochybnosti provedeno ještě 1x mezi 28. a 32. gestačním týdnem (viz dále).

Kontroly po porodu

Po porodu je vhodné snížit substituční dávku levotyroxinu na hodnotu před otěhotněním, suplementace jodem se ponechává ve stejné dávce po celou dobu kojení. Kontroly musí být častější, aby se zachytila případná hyper i hypo fáze PPT nebo aktivita GB choroby. Optimální je naplánovat první kontrolu TSH 6 týdnů po porodu a další kontroly za 3, 6 a 12 měsíců po porodu, při patologických nálezech příslušně častěji. Je vhodné poučit ženu, že při příznacích hypertyreózy má vyhledat kontrolu dříve. Je skutečností, že ženy si obtíže jak při fázi hyperfunkce tak při fázi hypotyreózy příliš neuvědomují.

Izolovaná hypotyroxinémie a její význam pro těhotenství

Jako izolovanou hypotyroxinémii označujeme nález sníženého volného tyroxinu spolu s normálním TSH v krvi, protilátky by měly být negativní. Observační studie [25] ukazují asociaci takového stavu s horším psychomotorickým vývojem dítěte. To má plausibilní biologické zdůvodnění, neboť před zahájením tvorby hormonů ve fetální štítné žláze (asi ve 12. týdnu) je vývoj mozku plodu závislý na mateřském tyroxinu [15]. Vysvětlení izolované hypotyroxinémie při existenci zpětné vazby mezi periferními hormony a TSH není jednoduché a spekuluje se především o deficitu jodu s relativně vyšší tvorbou T3 než T4. Tomu by mohla odpovídat bimodální distribuce abnormalit ve studii CATS [11]: 5 % žen mělo zjevnou hypotyreózu, asi 47 % subklinickou hypotyreózu a asi 48 % mělo izolovanou hypotyroxinémii. Taková distribuce naznačuje, že se jedná o etiologicky různé poruchy. V našich podmínkách je izolovaná hypotyroxinémie vzácnější [17,26], což může odrážet lepší saturaci populace jodem [5]. Důležitý praktický problém pro interpretaci izolované hypotyroxinémie navíc představuje malá spolehlivost běžně užívaných metod pro stanovení volného T4 v těhotenství [27] (viz kapitola 2.1.2), a také naprostá absence norem pro volný T4 v těhotenství. Jediná dosud publikovaná intervenční studie CATS neprokázala příznivý účinek substituce levotyroxinem na IQ potomků žen s izolovanou hypotyroxinémií [11], ale složitosti s vyšetřováním volného tyroxinu ve studii byly zjevné [28]. Izolovaná hypotyroxinémie má dosud nejistý význam pro těhotenství a není prokázán příznivý účinek substituce levotyroxinem; ta proto dle ATA [2] není indikována. Je vhodné zvážit, zda pacientka netrpí nedostatkem jodu, a zajistit doporučené denní dávky. Některé z uvedených studií ale nevyšetřovaly tyreoidální protilátky. Je tedy možné, že minimálně část žen s tzv. izolovanou hypotyroxinémií má i pozitivní protilátky. V těchto případech lze léčbu levotyroxinem považovat za oprávněnou (viz kapitola 3.4.2).

3.5 Eufunkční ženy s průkazem protilátek v těhotenství

3.5.1 Riziko rozvoje hypotyreózy v průběhu těhotenství u (dosud) eutyroidních žen s pozitivními Anti-TPO

Vzhledem ke zvyšujícím se nárokům na produkci tyreoidálních hormonů v těhotenství a často omezené funkční rezervě při pomalu progredující CLT dochází u části žen během těhotenství k vzestupu TSH i při jeho normální vstupní hladině. Ve skupině neléčených žen s CLT zvýšilo TSH nad normu asi 20 % dosud eutyroidních žen s pozitivitou Anti-TPO [29] a podobné riziko (19 %) bylo dokumentováno v další studii u Anti-TPO pozitivních žen, u nichž hodnota TSH ve 12. týdnu byla normální [30,31]. Stanovení Anti-TPO je přinejmenším stejně významnou součástí screeningového vyšetření těhotné ženy jako TSH (možná kvantitativně významnější). U Anti-TPO pozitivních žen se vstupním TSH nižším 2,5 mIU/l je možné individuálně zahájit léčbu malou dávkou levotyroxinu (50 µg/d) i v případě normálního vstupního TSH a dávku upravovat podle kontrol jako u žen se vstupní hypotyreózou. Léčba má zabránit rozvoji hypotyreózy během těhotenství (cca u 20 %) a re-

dukovat riziko porodnických komplikací (cca 3x). Léčba se obvykle zahajuje u žen anamnesticky rizikových (potraty/předčasné porody, jiné autoimunitní choroby), u žen s pozitivním nálezem na ultrazvuku či u žen se sníženým volným T4 v krvi. Je nutno poznamenat, že cut-off pro pozitivní Anti-TPO v těhotenství neodpovídá hodnotě udávané výrobcem pro běžnou populaci (např. ve studii Springer et al. 2009 byla pro metodu s „cut-off“ 60 kIU/l pro běžnou populaci stanovena norma pro těhotné ženy s normálním TSH na 143 kIU/l). Proto je při rozhodování o léčbě Anti-TPO pozitivních těhotných žen s normálním TSH třeba brát v úvahu i výši titru Anti-TPO a případně i nález na ultrazvuku štítné žlázy.

TPO-pozitivní ženy je nutné kontrolovat častěji v poporodním období (stejně jako ženy s hypotyreózou, viz kapitola 4.3). Cílem je včas zachytit a léčit jak PPT, tak i event. aktivaci GB choroby. Je třeba počítat s tím, že jejich podstatná část (asi polovina) žen s PPT bude progredovat do trvalé hypotyreózy a neléčená pak nepříznivě ovlivní jejich další těhotenství.

3.5.2 Riziko porodnických komplikací u (dosud) eutyroidních žen s pozitivními Anti-TPO

Nedávná metaanalýza 31 převážně observačních studií [32] ukázala, že u těchto žen je asi 3x vyšší riziko spontánního potratu (v kohortových studiích asi 3,9x, v case-control studiích asi 1,8x) a asi 2x vyšší riziko předčasného porodu. Naproti tomu intervenční studie je pouze z jednoho pracoviště [30]. Ačkoli podporuje příznivý efekt léčby levotyroxinem na porodnické komplikace, její autor (Roberto Negro) v editoriale k uvedené metaanalýze [31] připomíná, že asociace je jasná, ale účinnost léčby je dosud nejistá pro více možných činitelů ve hře. Léčbu malou dávkou levotyroxinu takovým ženám můžeme s přihlédnutím ke konkrétnímu případu podávat (viz kapitoly 4.1 a 7), protože potenciální přínos je zjevný a rizika minimální (pokud není žena předávkována). Také cena je nízká, takže analýza cost-efektivity vyznívá pro léčbu, a dokonce i pro univerzální screening [33]. Spolehlivější odpověď můžeme očekávat od dalších studií, např. od probíhající multicentrické studie TABLET.

3.5.3 Rizika po porodu, poporodní tyreoiditida (PPT)

Po porodu se opět sníží nároky na tyreoidální hormony na úroveň před otěhotněním. Logické by proto bylo rovněž substituční dávku snížit na původní hodnotu a u předtím neléčených žen substituci vysadit. Protože však po porodu změnou imunologického vyladění dochází k akcentaci autoimunitních procesů, není vhodné takto postupovat automaticky, ale vždy individuálně. V praxi se jeví jako vhodný postup, aby se ženy léčené již před těhotenstvím vrátily k dávce jako před graviditou a u žen s léčbou nově nasazenou v těhotenství byla léčba ponechána a úprava byla provedena podle kontroly TSH 6 týdnů po porodu. Další kontrola TSH by měla být za 3, 6 a 12 měsíců po porodu a při patologických nálezech příslušně častěji. Je důležité kontrolovat častěji zejména ženy se známým autoimunitním onemocněním (nejen) štítné žlázy. Je-li proto přítomna CLT, pak se tato akcentace v prvním poporod-

ním období (asi do 3. měsíce) může projevit zvýšeným vyplavováním hormonů z poškozené žlázy (hyper fáze PPT), které je v dalším období od 3.-6. měsíce následováno sníženou sekrecí (hypo fáze PPT); ta pak může zůstat snížená (a případně progredovat) nebo se vrátit k hodnotám před otěhotněním.

U žen s pozitivními Anti-TPO, které byly před otěhotněním eutyroidní, je riziko PPT asi 40 % [3] a asi u 20 % eutyroidních žen s pozitivními Anti-TPO přetrvává hypotyreóza i po roce od porodu a přechází v klasickou CLT a obdobně mohou po porodu reagovat ženy s již dříve léčenou CLT. Hyperfunkční fáze se může projevit nutností snížit dávku levotyroxinu nebo i přechodně léčbu vysadit. Tyreostatika se samozřejmě nepodávají, pouze v případě obtíží indikujeme v malých dávkách a krátkodobě betablokátory. Kojení není nutno přerušovat. Podle nedávné studie [34] více než 50 % žen s CLT potřebuje v poporodním období substituční dávku vyšší než původní. Podobně může dojít k aktivaci Gravesovy nemoci (relaps nebo méně často první ataka), vyžadující ovšem příslušnou tyreostatickou terapii (viz kapitola 6).

4. Význam jodu v graviditě

Zamrazil V.

4.1 Význam jodu pro lidský organizmus a jeho zdroje

Jod je nezbytnou součástí hormonů štítné žlázy trijodtyroninu (T3) a tyroxinu (T4). Do lidského organismu se jod dostává ze zevního prostředí potravou, možným zdrojem jsou v některých oblastech i minerální vody, jinak obsah jodu v pitné vodě obvykle nestačí zajistit dostačující přívod do organismu. Je obtížné stanovit optimální přívod jodu, obvykle se určuje nejnižší přívod, který ještě dlouhodobě zajistí normální funkci štítné žlázy, a nadměrně zvýšený přívod, který je spojen s riziky nepříznivých účinků.

4.2 Mění těhotenství potřebu jodu?

Dostačující přívod jodu se uvádí pro oběhovou dospělou populaci hodnotou 150 µg/den. Těhotenství (a také kojení) mění situaci v tom smyslu, že je nutno zajistit dva organizmy (těhotnou ženu a vyvíjející se plod). Samo těhotenství zvyšuje potřebu jodu u gravidní ženy vlivem na zvýšenou potřebu tyreoidálních hormonů, změnami koncentrace prenosových vazebných proteinů (především TBG), zvýšeným vylučováním jodu močí při zvýšené glomerulární filtraci. K nedostatku jodu může přispět i změna životosprávy těhotné ženy, zejména doporučené omezení solení (jodovaná sůl je u nás a ve většině zemí převažujícím a nejdůležitějším zdrojem jodu). Na zvýšené potřebě jodu v těhotenství se podílí vyvíjející se plod dvěma základními mechanismy: 1. spotřebovává hormony štítné žlázy, které získává z organismu matky cestou placentárního oběhu, 2. štítná žláza plodu začíná zhruba od 12. – 14. týdne gravidity produkovat hormony štítné žlázy. K tomu samozřejmě potřebuje dostatek jodu, který získává rovněž z mateřského oběhu [35,36]. Problematice jodového

deficitu se věnuje řada organizací od WHO (Světová zdravotnická organizace) přes UNICEF, až po k tomu účelu zřízené ICCIDD (International Council for Control of Iodine Deficiency Disorders), která organizuje, provádí a kontroluje programy optimalizace přísunu jodu. Tato organizace rovněž vypracovala kritéria pro hodnocení saturace jodem v populaci (Tabulka 3) a hodnocení rizik z nedostatečného a zvýšeného přísunu jodu.

Základními kritérii hodnocení zásobení jodem je jodurie (obvykle vyšetřovaná jako koncentrace jodu v prvním ranním vzorku moči), výskyt zvětšené štítné žlázy (strumy) a u novorozenců vyšetření TSH krvi. Výsledky našeho epidemiologického průzkumu prokázaly, že v České republice je celopopulační průměrný přísun jodu hodnocený pomocí jodurie v referenčních mezích. Jodurie byla průměrně 120-130 µg/l (při dolní hranici 100 µg/l) [5]. To odpovídá příjmu asi 150 µg jodu denně. V těhotenství vzhledem ke zvýšené potřebě jodu *stoupá hranice minimálního přívodu na 250 µg denně*. Jak vyplývá z uvedených čísel, průměrný přívod jodu v naší populaci však této hodnoty spíše nedosahuje [37].

4.3 Jaké jsou důsledky nedostatku jodu v těhotenství?

Stručně řečeno jsou významné jak z hlediska matky, tak i plodu a jsou přehledně uvedeny v Tabulce 4. Nejdůležitější jsou poruchy vývoje centrálního nervo-

vého systému plodu, ke kterým dochází při závažném nedostatku jodu, a z toho vyplývajícího z nedostatku tyreoidálních hormonů v oběhu matky a druhotně i plodu v časných fázích těhotenství. V extrémních případech vede porucha vývoje CNS a dalších vývojových poruch např. změn vývoje skeletu ke vzniku těžce defektního jedince. Tento stav se označuje jako endemický kretenismus a je ireparabilní. U nás se již nevyskytuje. V našich podmínkách se však může vyskytnout u části těhotných žen lehčí nedostatek jodu. Ten může vést k mírným změnám psychosomatického vývoje, a ke změnám chování dítěte – hyperaktivní těžko zvládnutelný jedinec je postrachem pedagogů i rodičů.

4.4 Jak lze hodnotit zásobení jodem v těhotenství?

Ve skutečnosti je velice obtížné vyšetřovat obsah jodu v přijímané potravě. Vzhledem k tomu, že asi 80 % jodu se vylučuje močí, slouží i v těhotenství ke zhodnocení přívodu jodu stanovení jodurie. Ta by podle doporučení ICCIDD měla v těhotenství dosáhnout nejméně 150 µg/l. Vyšetření jodurie však není obecně tak dostupné jako je vyšetření tyreoidálních hormonů nebo protilátek, takže si je rezervujeme pouze pro nejasné případy. Klinické známky nedostatečného přívodu jodu u matky, a tím spíše u plodu prakticky neexistují. Může na něj upozornit růst štítné žlázy či vznik strumy a její nodulizace.

Tabulka 3. Hodnocení zásobení jodem dle ICCIDD (hodnoceno pomocí jodurie)

Jodurie µg/l	Stav saturace	Důsledky
<20	Těžký deficit	Endemický kretenismus
20-49	Závažný deficit	Struma Poruchy psychosomatického vývoje Snížení inteligence Poruchy tyreoidální funkce Poruchy plodnosti
50-99	Mírný deficit	-
100-249	Optimální stav	-
250-499 (599)*	Nadměrný přísun	Možná aktivace autoimunity Tyreotoxikóza
>500 (600)*		Aktivace autoimunity Tyreotoxikóza

* odlišné hranice podle doporučení různých expertů

Tabulka 4. Jod v graviditě a nepříznivé důsledky jodopenie

Optimální jodurie	>150 µg/l	
Optimální přísun jodu	250 µg/den	
Horní hranice přívodu jodu	Jodurie 500 (600)* µg/l	
Nepříznivé důsledky jodopenie podle různých expertů	Matka	Růst a nodulizace strumy Komplikace gravidity: potrat, předčasný porod poruchy vývoje placenty Poporodní změny: poruchy laktace (?)
	Plod	Odumření (vzácně) Poruchy růstu a diferenciací (vrozené vady?) Poruchy diferenciací CNS Psychické změny Poporodní změny: zvýšená morbidita, mortalita (?)

* odlišné hranice podle doporučení různých expertů

4.5 Jak řešit optimalizaci přívodu jodu v těhotenství?

Základem je zajištění dostatečného přívodu jodu v celé populaci. To je u nás uskutečňováno jodovanou solí, která v ČR obsahuje 27 ± 7 mg jodu ve formě KI v 1 kg soli. Je nutno zdůraznit, že obsah jodu v soli propagované zastánci zdravé výživy (např. mořská sůl a alpská sůl) zdaleka nedosahuje uvedených hodnot, obvykle se pohybuje v koncentracích do 10 mg jodu v 1 kg soli. Proto doporučujeme těhotným ženám, aby používaly jodovanou sůl. Dalšími zdroji jodu jsou mořské produkty (které nejsou u nás příliš populární a mohou obsahovat rtuť) a mléko, v nich ale koncentrace jodu značně kolísá.

Proto Česká endokrinologická společnost ČLS JEP a Česká pediatriká společnost ČLS JEP doporučují celoplošně saturovat těhotné a kojící ženy dávkou 100 μ g jodu navíc ve formě tablet kalium jodidu (Jodid) nebo ve vitaminových přípravcích, doporučených v graviditě. Recentní revidovaná guidelines Endocrine Society doporučují dokonce dávky o něco vyšší (150-200 μ g denně) [4]. Nadměrný přívod jodu sice může aktivovat autoimunitní tyreoidální procesy, při imunotoleranci v graviditě je však toto riziko minimální. Vzhledem k trvalým nepříznivým důsledkům jodopenie u plodu je zvýšený přívod jodu nutný i u žen s autoimunitními tyreopatiemi, ovšem za pečlivé odborné endokrinologické kontroly. Pokud matka kojí, je dítě rovněž závislé výhradně na přísunu jodu mateřským mlékem. Je proto nutno zachovávat zvýšený přívod i po dobu kojení.

5. Tyreotoxikóza, tranzientní gestační hypertyreóza

Zamrazil V.

5.1 Úvod

Hypertyreóza (Tx) je stav, kdy produkce hormonů štítné žlázy přesahuje aktuální potřeby organismu. Kromě manifestní formy existuje vzácně tzv. subklinická hypertyreóza. Jde o nepoměr mezi sníženými hladina-

mi TSH a normálními hodnotami tyreoidálních hormonů FT₄, FT₃. Přítomnost klinických známek Tx.

5.2 Hypertyreóza (Tx) v graviditě

Tx v graviditě představuje důležitou, i když méně častou poruchu funkce štítné žlázy. Její nejdůležitější formy jsou uvedeny v Tabulce 5. Nejčastější je autoimunitní forma – GB tyreotoxikóza.

Význam Tx v graviditě je komplexní a může nepříznivě ovlivnit:

- Samotný průběh těhotenství: sklon k abortům, předčasným porodům, poruchám vývoje placenty.
- Vývoj plodu: nepříznivě působí na rychlost růstu a zrání plodu, problematická je souvislost se zvýšeným výskytem vrozených vad, zejména kardiovaskulárního systému.
- Průběh porodu: snížená schopnost kontraktility dělohy, porod může vyvolat závažné zhoršení klinického obrazu Tx až do vzniku tyreotoxické krize.
- Vývoj novorozence a kojence: zvýšená hladina tyreoidálních hormonů v graviditě se přenáší do plodu, takže po porodu má novorozenec klinické známky Tx, která je obvykle přechodná. U autoimunitní Tx vyvolané tvorbou protilátek stimulujících TSH receptor se tyto protilátky přenášejí do plodu [38,39].

5.2.1 Klinický obraz

Klasický obraz Tx může být v graviditě zastřen, převažují pocity horka a pocení, bušení srdce (spíše výjimečně s pocity nepravidlosti). Změny chutí k jídlu mohou být ovlivněny obecně se vyskytujícími gastrointestinálními potížemi v graviditě, a mohou vést k poklesu hmotnosti. Vzácně může být přítomen pocit diskomfortu na krku. Oční potíže mohou být přítomny, nejčastěji jde o pálení očí, zvýšené slzení, ale typická endokrinní orbitopatie je v graviditě vzácná.

5.2.2 Laboratorní nálezy u Tx v graviditě

Neliší od laboratorní diagnostiky u negravidních osob: jde o supresi TSH a zvýšené hodnoty FT₄ a FT₃ tyreoidální etiologie.

Tabulka 5. Nejdůležitější formy tyreotoxikózy v graviditě

Tyreoidálního původu	Autoimunitní - Gravesova-Basedowova choroba - tyreoiditidy akutní fáze autoimunitní tyreoiditidy (silentní forma, poporodní tyreopatie) subakutní tyreoiditida Tyreoidální autonomie - např. independentní adenom Nádory - funkčně aktivní velké metastázy diferencovaných tyreoidálních karcinomů (velmi vzácné)
Extratyreoidálního původu (vzácné)	- ovariální tumory s tyreoidální tkání - teratomy s tyreoidální tkání - paraneoplastická sekrece TRH, TSH - adenomy hypofýzy produkující TSH - rezistence na tyreoidální hormony
Léčebné zákroky	- předávkování tyreoidálními hormony - akutní masivní zátěž jodem (rtg kontrastní látky, amiodaron) - imunostimulancia a imunomodulancia (vzácně, častěji hypotyreóza)

Problémem může být suprese TSH v 1. trimestru, která je způsobena zvýšenou tvorbou stimulujících proteinů v placentě (tranzientní gestační hypertyreóza), proto suprese TSH v 1. trimestru není spolehlivou známkou tyreotoxikózy [40,41]. Hodnoty FT4 se fyziologicky v graviditě nezvyšují, takže hodnoty nad normu svědčí pro Tx. Totéž platí v menší míře i pro hodnoty FT3.

Zvýšené hodnoty TSH stimulujících protilátek (TRAK neboli Anti-TSH) svědčí pro přítomnost GB Tx. Vzhledem k imunotoleranci spojené s graviditou jejich hodnota v průběhu gravidity při léčbě obvykle klesá a sleduje remisi choroby. Sonografické změny štítné žlázy ve smyslu hypoechogenity a zvýšeného krevního průtoku jsou stejně spolehlivou známkou autoimunitní Tx jako u negravidních žen.

5.2.3 Léčba Tx v graviditě

Neliší se zásadně od běžných doporučených postupů. V současné době se mění názor na podávání tyreostatik propylthiouracylového (PTU) a imidazolového (MMI) typu (thiamazol). Novější nálezy svědčí pro výrazný hepatotoxický vliv PTU. Proto původní doporučení podávat PTU v průběhu gravidity a kojení (důvodem byl údajný snížený průnik PTU placentou) se mění na doporučení podávat PTU pouze v 1. trimestru gravidity, dále pak přejít na MMI. Obecně je však u autoimunitních forem vliv gravidity na aktivitu Tx příznivý, takže dávku tyreostatik je možno výrazně snížit, výjimečně i vysadit. Po porodu obvykle dochází ke zvýšení aktivity Tx.

Iniciální farmakoterapie

Dříve diskutovaná otázka bezpečnosti tyreostatické léčby v graviditě je v současné době vyřešena v tom smyslu, že nižší dávky (např. 10–20 mg thiamazolu) neovlivňují nepříznivě průběh gravidity a vývoj plodu mohou ovlivnit jen velmi vzácně (pokud dojde k předávkování). Při této dávce je možné i kojení.

V léčebném postupu je nutno odlišit dvě situace:

A) **Tx je diagnostikována na začátku gravidity:**

Na základě recentních údajů je doporučeno zahájit léčbu propylthiouracylem v dávkách do 200 mg denně a ve 2. a 3. trimestru použít thiamazol (do 20 mg denně). Tyreotoxikóza má obvykle tendenci ke zklidnění ve 2. trimestru a výjimečně jsou nutné dávky vyšší (propylthiouracyl max. 300 mg denně a thiamazol max. 30 mg denně). Vždy je nutné kontrolovat klinický stav a hladinu FT4 a eventuálně FT3, a to zpočátku po 2-4 týdnech a dbát na to, aby hladina FT4 neklesla pod 12 pmol/l, optimální je udržovat hladinu v rozmezí 15 – 20 pmol/l (přiměřeně dle norem daných výrobcem). Menším zlem je hodnota hraničně vyšší než hodnota FT4 iatrogeně snižená. Monitorování hodnot TSH nemá v průběhu léčby Tx zásadní význam, hodnota může být suprimovaná po zklidnění Tx řadu měsíců. Při riziku předávkování TSH upozorní na rozvoj iatrogení hypotyreózy. Po porodu obvykle dochází ke zvýšení aktivity Tx.

B) **Tx je léčena již před koncepcí:**

Těhotenství je možné, ale je nutné věnovat ženě během těhotenství zvýšenou pozornost. Ideální by bylo dosáhnout plného zklidnění již před těhoten-

stvím ve formě přípravy na plánované těhotenství. Důležité je, aby před otěhotněním byla tyreotoxikóza skutečně zklidněná, takže je nutné ženu před koncepcí vyšetřit klinicky i laboratorně (stanovením TSH, FT4, TRAK), eventuálně provést UZ tyreoidy. U zklidněné tyreotoxikózy v remisi není důvod nepodávat suplementaci jodem v běžných dávkách, tj. 100-150 µg jodu/den.

Těhotenství je možné při nižších a středních dávkách tyreostatik, tj. do cca 150–200 µg propylthiouracylu v 1. trimestru a 15–20 µg thiamazolu v dalším průběhu těhotenství. Po zklidnění metabolické aktivity Tx a poklesu FT4 (FT3) je nezbytné snižovat dávku tyreostatik k dosažení optimální hladiny FT4 a jsou nutné častější klinické a laboratorní kontroly (cca 1x za měsíc) se sledováním klinického stavu a hodnot FT4. Hodnoty TSH jsou méně spolehlivým indikátorem, ale upozorní na případné předávkování tyreostatika a rozvoj iatrogení hypotyreózy. Iatrogení hypotyreóza je nepříznivá pro plod, mimo jiné může vyvolat fetální strumu.

Operace štítné žlázy v graviditě, radiojod

Pokud je špatná spolupráce s těhotnou ženou, objevují se známky intolerance (alergické reakce, leukopenie, poruchy jaterní funkce), Tx vyžaduje trvale vysoké dávky tyreostatik, případně těhotná žena preferuje sama operaci, je možno provést tyreoidektomii na konci 2. a začátku 3. trimestru gravidity. V České republice doporučujeme totální tyreoidektomii. Ve výše uvedené době tento výkon nemá negativní dopad na průběh gravidity ani na vývoj plodu. Žena musí být k operaci připravena, tj. mít normální hladinu FT4. Po operaci ihned podáváme plnou substituční dávku tyroxinu. Léčba radiojodem je v těhotenství kontraindikována.

Léčba relabující Tx po porodu

U autoimunitních forem Tx dochází obvykle po porodu k relapsu Tx. Projevuje se to běžnými klinickými projevy a často i poruchami laktace. Po porodu je nutná klinická a laboratorní kontrola nejen po 4-6 týdnech, ale i v dalším období. Podávání tyreostatik podle současných názorů není kontraindikací kojení při dávkách thiamazolu do 20 mg/den.

Pokud je nutné pro aktualizaci tyreotoxikózy podat po porodu vyšší dávky, je vhodné kojení přerušit. Doporučuje se užití thiamazolu vždy po nakojení. Thiamazol i betablokátory přecházejí do mateřského mléka.

Subklinická Tx v graviditě

Na rozdíl od subklinické hypotyreózy nepředstavuje v graviditě subklinická Tx obvykle závažný zdravotní problém. Odlišení od fyziologického poklesu TSH v 1. trimestru gravidity se opírá především o vyšetření protilátek (TRAK) a nález na UZ štítné žlázy. Jediným možným rizikem je přechod subklinické Tx do manifestní formy. To je ovšem v graviditě zcela výjimečné. Rozhodně by bylo chybou ovlivňovat sníženou hladinu TSH bez zvýšené hladiny FT4 a/nebo FT3 a bez klinických známek Tx v graviditě podáváním tyreostatik [42].

Vedlejší účinky léků používaných k léčbě tyreotoxikózy na plod

- **Methimazol**

Při léčbě methimazolem byly ojediněle popsány negativní dopady na plod: choanální nebo esofageální atrezie a dysmorfie obličeje, aplasia cutis, hypotyreoza plodu, struma plodu [43-47].

- **Betablokátory**

Dlouhodobé podávání (déle než 6 týdnů) je spojeno s intrauterinní růstovou retardací, bradykardií plodu a hypoglykemií novorozence [47]. Po betablokátorech byly popsány i častější spontánní potraty [48].

5.2.4 Prekoncepční odhalení rizika Tx a preventivní opatření

V současné době stoupá význam odhalení tyreotoxikózy u žen před početím. V rámci plánovaného rodičovství (prekoncepční péče) je možné odhalit některé faktory, které znamenají zvýšené riziko vzniku Tx v graviditě. Na tyto osoby by se měla zaměřit zvýšená péče ve smyslu prekoncepčního vyšetření tyreoidálního stavu (TSH, Anti-TPO, eventuálně UZ štítné žlázy, FT4). Týká se to především žen tzv. rizikových (viz kapitola 7). Optimální by bylo i vyšetření jodurie. Pak je možno prekoncepčně léčit zjištěné odchylky.

5.3 Tranzientní gestační hypertyreóza (TGH)

5.3.1 Klinický, laboratorní a sonografický obraz TGH

Při hyperfunkci štítné žlázy vyvolané stimulací placetárními hormony (tranzientní gestační hypertyreóza - TGH) je přítomná suprese TSH, protilátky TRAK (proti TSH receptoru) nejsou zvýšené a chybějí další známky přítomnosti autoimunitního procesu (další tyreoidální protilátky, hypoechogenita štítné žlázy při sonografickém vyšetření). Tyreoidální hormony (FT4 a FT3) v krvi bývají normální, ale mohou být i mírně zvýšené. Klinické příznaky většinou nejsou žádné, někdy tyto změny provází hyperemesis gravidarum a někdy mohou být i mírné klinické příznaky hypertyreózy.

5.3.2 Léčba TGH

Tento stav není indikací k podávání tyreostatik. Pokud jsou potíže výrazné, je možno v 1. trimestru gravidity se zvážením potenciálních rizik podávat betablokátory, které jsou však v pozdní fázi gravidity kontraindikované. Stav spontánně odeznívá koncem 1. trimestru.

5.4 Endokrinní orbitopatie v graviditě (Jiskra J.)

Endokrinní orbitopatie (EO) v graviditě je velmi vzácná, může se však vyskytnout a byla popsána dokonce i u eutyreózních žen [49]. Guidelines pro léčbu tyreopatií v těhotenství ani pro léčbu EO tuto problematiku nezmiňují. Důvodem je naprostá absence jakýchkoliv systematických studií z důvodu nízké incidence onemocnění. Léčba je tudíž zcela empirická a poznatky lze získat pouze z ojedinělých publikovaných kazuistik. Základními předpoklady léčby jsou co nejrychlejší dosažení eutyreózního stavu, zanechání kouření a správná klasifikace aktivity a závažnosti onemocnění. Žena by měla být odeslána do specializovaného centra vždy, když jde o střední až těžkou či zrak ohrožující EO. Lé-

čebný postup u lehké aktivní EO se v graviditě neliší od běžné populace. Jde o lokální léčbu (umělé slzy, sluneční brýle apod.) a lze vyzkoušet efekt tablet se selennem v dávce 2x200 µg denně. U střední až těžké se vždy postupuje individuálně. Je-li ohrožen zrak ženy, je na místě podání vysokých dávek kortikoidů (methylprednisolon) i.v. v pulzech podobně jako u běžné populace. Kumulativní dávka by měla být co nejmenší při zachování účinnosti. Obvykle je snaha podávat dávky menší než u netěhotných - kumulativně do 2-3 g během 6 týdnů v závislosti na efektu léčby a stupni těhotenství (raději menší dávky v 1. trimestru) a není-li patrný efekt, je třeba přistoupit k chirurgické dekompresi orbity. Tato léčba měla v publikovaném případě dobrý efekt [49]. Methylprednisolon nebyl z důvodu nedostatku dat dosud FDA stran potenciálních rizik v těhotenství kategorizován, nežádoucí účinky na vývoj plodu jsou tedy možné (zejména v 1. trimestru), ale kontrolovaná data u lidí nejsou k dispozici. Dosud dostupná data jsou rozporuplná – bylo publikováno riziko rozštěpu rtu u dětí při podání steroidů v 1. trimestru [50], na druhou stranu se ukázalo, že steroidy jsou z velké části metabolizovány přímo v placentě a k plodu se dostane jen nepatrná část [51]. V publikovaných případech byl perorální prednison podáván z indikace EO bez negativního vlivu na plod již od konce 1. trimestru [52]. Alternativou k i. v. pulzům methylprednisolonu se jeví aplikace i. v. pulzů imunoglobulinů (IVIG), které nejsou teratogenní [53], a které se používají v graviditě při léčbě roztroušené sklerózy [54]. U těhotných žen s EO však s nimi nejsou dosud žádné zkušenosti. Radioterapie je v těhotenství kontraindikovaná.

6. Ženy s infertilitou, po potratu a po předčasném porodu

Jiskra J.

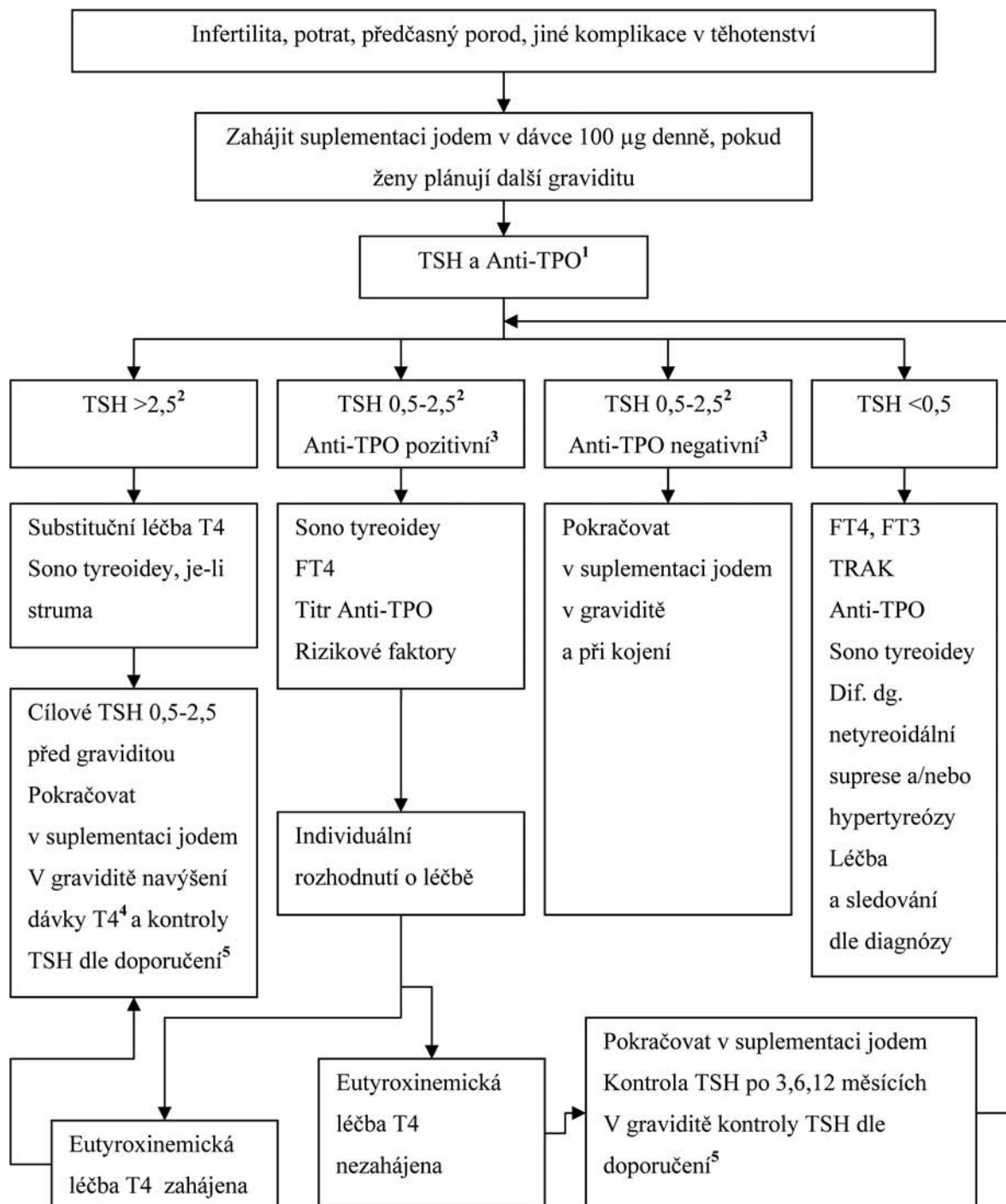
6.1 Úvod

Je prokázáno, že nejen plně vyjádřená (manifestní) tyreoidální dysfunkce, ale i subklinická hypotyreoza či pouhá pozitivita tyreoidálních protilátek (ThAb) - proti tyreoidální peroxidáze (Anti-TPO) a/nebo proti tyreoglobulinu (Anti-Tg) - je spojena s vyšší prevalencí infertility, potratů, předčasných porodů a dalších komplikací gravidity [32].

6.2 Ženy se zvýšeným rizikem infertility, potratů a předčasných porodů z důvodu tyreopatií

Nejvíce rizikových žen je ve skupině s manifestní nebo subklinickou hypotyreózou a ve skupině žen s normální tyreoidální funkcí a pozitivními Anti-TPO, protože těch je nejvíce (10-15 % žen ve fertilním věku). Tyto ženy jsou ve valné většině asymptomatické a nejsou diagnostikovány, pokud není vyšetření provedeno záměrně. Subklinická hypertyreóza tyreoidální etiologie je u žen ve fertilním věku mnohem vzácnější (viz kapitola 6). Vyšetření TSH a Anti-TPO v krvi by proto mělo být provedeno u všech žen s infertilitou, po potratu, předčasném porodu či u žen s jinak komplikovaným těhotenstvím, které plánují další graviditu.

Obř. 1. Diagnostický a léčebný postup u žen s infertilitou, potrat, předčasným porodem či jinak komplikovaném těhotenství, které plánují další graviditu



T4: levotyroxin, TSH: sérové koncentrace tyreoidálního stimulačního hormonu (mIU/l),

Anti-TPO: sérové koncentrace protilátek proti tyreoidální peroxidáze (kIU/l), FT4: sérové koncentrace volného tyroxinu (pmol/l)

¹ ne dříve než 6 týdnů po zahájení suplementace jodem, abychom minimalizovali podíl jodového deficitu na elevaci TSH

² hodnota 2,5 mIU/l platí pro metody s horním limitem 4,0 mIU/l, přesněji jde o horní limit konkrétní metody snížený o 1,5 mIU/l, nejlépe horní limit TSH pro těhotné ženy konkrétní laboratoře, pokud je k dispozici

³ dle norem konkrétní laboratoře; za klinicky významné se v těhotenství považuje zvýšení na minimálně dvojnásobek normy uváděné výrobcem [17]

⁴ navýšení dávky levotyroxinu průměrně asi o 30 % [potřeba zvýšení dávky je individuální (25-50 %) v závislosti na příčině hypotyreózy a množství zbytkové funkční tyreoidální tkáně]

⁵ v graviditě kontroly TSH v 5.-6., 10., 14. a 20. týdnu (± 1 týden), dále po šestinedělí a každé 3 měsíce 1. rok po porodu a každých 6 měsíců 2. rok po porodu. Doporučení ATA 2011 uvádějí ještě kontrolu TSH mezi 28.-30. týdnem těhotenství, podle našich zkušeností je však tato kontrola při dobrém klinickém průběhu málokdy důvodem ke změně terapie, proto ji považujeme za nadbytečnou.

6.3 Léčba tyreopatií u žen s infertilitou, po potratu či předčasném porodu

Názor na léčbu žen s manifestními tyreoidálními dysfunkcemi je jednoznačný – měla by se ihned zahájit a strategie léčby se neliší od běžné populace. Podobně se doporučuje léčit ženy se subklinickou hypotyreózou a současně pozitivními Anti-TPO. Cílové hodnoty TSH při léčbě jsou 0,5-2,5 mIU/l [2,3] (viz kapitola 4).

Nejasnosti stran léčby levotyroxinem však stále přetrvávají především u žen s normální tyreoidální funkcí a pozitivními Anti-TPO, u žen se subklinickou hypotyreózou, ale negativními Anti-TPO a žen s izolovanou hypotyreoxinémií (to se týká jak těhotných žen, tak žen s infertilitou a žen po spontánních potratech). Máme zatím jen omezené množství informací z randomizovaných kontrolovaných studií (RCT), proto nelze jednoznačně říci, že léčba levotyroxinem v těchto případech snižuje incidenci potratů, předčasných porodů, či jiných komplikací těhotenství, zlepšuje fertilitu či zlepšuje psychomotorický vývoj narozených dětí. Ve studii Negro et al. [21] byla při podávání levotyroxinu eutyreózním Anti-TPO-pozitivním ženám redukce incidence potratů o 36 % a předčasných porodů o 69 %. V další studii bylo podáváním levotyroxinu eutyreózním Anti-TPO-pozitivním ženám při IVF dosaženo redukce incidence potratů o 75 % [55]. Obě studie jsou ze stejného pracoviště, a to je jeden z argumentů, proč některé autority nepovažují tyto důkazy za dostatečné, a výsledky těchto studií se nepromítly do nejnovějších doporučení z r. 2011 [2,3]. Proto je postup v těchto situacích zatím individuální.

6.4 Faktory, které u žen s infertilitou, po potratu či předčasném porodu podporují zahájení léčby hraničních stavů levotyroxinem

V rozhodování zda léčit nebo neléčit hraniční stavy (subklinická hypotyreóza s negativními Anti-TPO, pozitivní Anti-TPO s normální tyreoidální funkcí, izolovaná hypotyreoxinémie) levotyroxinem může být prospěšné zvážení následujících ukazatelů: přítomnost dalších rizikových faktorů (tyreopatie či autoimunitní onemocnění v rodinné či osobní anamnéze), počet potratů, počet předchozích neúspěšných cyklů IVF, komplikace v předchozích těhotenstvích, výše titru Anti-TPO [17], sérové koncentrace FT4, nález na sonografii štítné žlázy [56] a také preference vyšetřované ženy. Faktorem je, že u žen s infertilitou, před plánovaným cyklem IVF a u žen s potraty v anamnéze přistupujeme k léčbě hraničních stavů častěji než u jinak zdravých těhotných žen, i když tento postup není „evidence-based“. Je nezbytné si uvědomit, že příprava IVF vyvolá „hormonální bouři“, na kterou tyreoida postižená autoimunitním zánětem může reagovat přiměřeně (obr. 1).

Dle doporučení ATA 2001 by však ženy plánující graviditu měly mít TSH do 2,5 mIU/l [2,3], nebo přesněji dle našich doporučení ne vyšší než je horní hranice normy dané metody snižená o 1,5 mIU/l, což implikuje zahájení léčby u všech žen se subklinickou hypotyreózou bez ohledu na Anti-TPO. Naopak léčbu izolované hypotyreoxinémie levotyroxinem ATA rutinně nedoporučuje. Domníváme, že v našich podmínkách by měla být

izolovaná hypotyreoxinémie (FT4 méně než dolní hranice normální hodnoty pro běžnou populaci) léčena pouze tehdy, pokud se vyskytne za podmínek dostatečného příjmu jodu a současně nejde o interferenci z důvodu změny poměru volné a vázané frakce při vzestupu vazebných bílkovin v těhotenství. Všechny ženy, usilující o graviditu, by měly být suplementovány jodem v dávce 100 µg denně, recentní revidovaná guidelines Endocrine society doporučují dokonce dávky o něco vyšší (150-200 µg denně) [4].

7. Struma, uzlová přestavba ve štítné žláze

Límanová Z.

7.1 Struma difúzní

Problematika difúzní zvětšené tyreoidy není v Doporučení ATA [2,3] zmiňována, pro ČR se stručně o difúzních strumách zmíníme:

S objemnými strumami se u mladších žen v ČR již nesetkáváme, pokud taková situace v graviditě nastane (většinou imigrantky), léčíme dle etiologie, operační postup je nezbytný v případě mechanických příznaků. Při nálezů difúzní strumy neodkladně zjistíme etiologii (základní laboratoř), UZ krku včetně posouzení uzlin, a řešení se řídí její příčinou. V našich podmínkách jde nejčastěji o důsledek choroby GB nebo o strumu Hashimotovu (na podkladě CLT). Klinické vyšetření s podrobnou anamnézou, příznaky poruchy funkce, výsledky laboratoře - FT4, TSH, protilátky včetně TRAK a UZ nasměrují snadno k léčbě. Zjistíme-li poruchu funkce (viz kapitoly 3 a 6). U rychle rostoucího většinou jednostranného postižení může být příčinou i malignita netyreoidálního původu (viz dále).

7.2 Struma uzlová, uzly ve štítné žláze

Pokud je štítná žláza změněna uzlovou přestavbou, ať jde o uzel, zjištěný již před graviditou nebo v graviditě, nebo náhodný nález odhalený při UZ v nezvětšené žláze, postupujeme v graviditě obdobně jako u netěhotných pouze s tou výjimkou, že s určením etiologie spěcháme až urgentně, dle charakteru uzlu [57]. Klademe důraz na vyšetření protilátek Anti-TPO, protože v ČR jsou uzly v terénu CLT poměrně časté a standardně protilátky doplňujeme – příčinou uzlu často bývá CLT. Uvážíme vyšetření kalcitoninu, především při klinickém podezření na medulární karcinom (anamnéza, výsledek FNAB). Ke standardním postupům vyšetření kalcitoninu nepatří.

7.2.1 Gravidita a uzlová přestavba

Opakovanými graviditami má tyreoida tendenci k uzlovatění, jak dokládají studie z oblastí s mírným až středním deficitem. Prevalence uzlů ve štítné žláze před graviditou je uváděna u 3-21% žen a počet uzlů stoupá s počtem parity [58,59]. Ve studii z r. 1993 [58] byl před graviditou zachycen uzel u 9% žen a výskyt stoupal na 20,7% resp. 33,7% po druhém a třetím těhotenství. Vyšší věk je spojen taktéž s vyšším počtem uzlů- 11-20% žen s 1 uzlem mělo po 2. graviditě druhý

uzel. Uzly se patrně těhotenstvími i zvětšují, 60 % uzlů velikosti 5-12mm zdvojnásobilo v graviditě velikost. Uváděné studie jsou staršího data a pocházejí z oblastí s mírným až středním nedostatkem jodu. Pro ČR nemáme pro graviditu recentní ani relevantní studie.

7.2.2 Vyšetření uzlů v graviditě

Postup je obdobný jako v běžné populaci, je však nutné vyšetření uskutečnit bezodkladně s ohledem na psychiku těhotné. Výtěžek FNAB může díky překrvení žlázy v těhotenství být pod limitem hodnotitelnosti, lepší buněčný zisk je možný při punkci bez aspirace. Sama gravidita cytologické hodnocení nekomplikuje. Akcentujeme rodinnou anamnézu - mimo obvyklé choroby cílíme dotaz na výskyt medulárního karcinomu (MEN 2), familiární polypózu - Gardnerův syndrom, karcinom tyreoidy. V osobní anamnéze opět mimo obvyklé dotazy nás zajímá záření krku, léčba pro jakoukoliv malignitu (možná metastáza), rychlost růstu uzlu. Palpace včetně vyhledávání zvětšených uzlin je samozřejmostí.

Vyšetření má být neodkladné a kvalitní – např. při UZ se musí vyšetřující v závěru vyjádřit i k charakteristice uzlu. Suspekci vyvolávají nepravidelné okraje, uzel výrazně hypoechogenní, je-li osa delší než šířší, přítomnost chaotických cévních spotů a/nebo i mikrokalcifikací. Při přítomnosti 1 a více z uvedených kritérií je oprávněné podezření z malignity. Prorůstání uzlu do okolí a /nebo zvětšené uzliny jsou pro malignitu typické. Na rozdíl od doporučení ATA, ve kterých u nesuspektních uzlů lze FNAB uskutečnit až po porodu a menší uzly než 10mm nevyžadují FNAB, v ČR doporučujeme FNAB vždy u uzlů nad 10mm a/nebo u uzlů sonograficky či klinicky suspektních (např. RA, rizikové faktory) provést vždy. Rychlým růstem uzlu se projevuje karcinom anaplastický, dále lymfom, příčinou může i metastáza (plíce, ledviny, prs), stav vyžaduje rychlé vyšetření opět s využitím UZ a FNAB. Další postup opět dle etiologie.

Laboratorní vyšetření: obvyklé TSH a FT4 většinou k diagnóze nepřispěje, na druhé straně však doporučujeme Anti-TPO (podpoří diagnózu CLT, což je důležitá informace pro cytopatologa), a při podezření z medulárního karcinomu nebo MEN (klinika, RA) je vyšetření kalcitoninu nezbytné. Prospektivní studie prokázaly, že rutinní vyšetření sérového kalcitoninu u neselektované populace s uzlem ve štítné žláze detekuje medulární karcinom pouze asi u 1 z 200-300 vyšetření [60,61].

7.2.3 Postup při nálezu (benigního) uzlu

Gravidita je rizikovým faktorem pro uzlovatění ve štítné žláze, ale rozhodně v této době není indikována supresní léčba. Je-li uzel benigní dle UZ a FNAB (Bethesda II), lze rozhodnutí o operaci snadno odložit po porodu. Výjimku tvoří benigní uzly, vyvolávající mechanický syndrom (útlak trachey), v těch případech je operace indikována ke konci 2. trimestru, obdobně přistupujeme k uzlu rychle rostoucímu – na rozdíl od Doporučení ATA [1], který připouští i postup rezervovanější – odklad operace po porodu.

7.2.4 Malignita na základě FNAB u gravidních žen

Jak často je ve vyšetřovaném uzlu odhalena malignita, rozdílně uvádějí tři starší nevelké studie: v selektované populaci gravidních žen na exklusivních pracovištích byl pozitivní histologický u 6/40- [62], 7/57 [63] a 7/16 [64]. Naopak v Číně byl sice diagnostikován uzel u 15,3% ze souboru 221 (nález především z UZ, jen minimum bylo palpovatelných) vyšetřovaných těhotných, ale nebyla prokázána žádná malignita hodnocením z klinického průběhu. Jen u minima však byl nález ověřen FNAB [52]. Vesměs jde o starší studie a menší soubory. Postup při záchytu malignity či podezření na malignitu ve FNAB (Bethesda V-VI) je v kapitole 8.3.

7.2.5 Nejistý – hraniční suspektní výsledek FNAB

Svědčí-li cytologické hodnocení pro folikulární či onkocytární neoplazii nejisté biologické povahy (Bethesda III-IV), doporučuje se další klinická rozvaha s opakovaním UZ a punkce za 3 měsíce. Jsou-li jakékoliv diagnostické pochybnosti či klinické podezření na malignitu, je možná operace v graviditě (ke konci 2. trimestru), která umožní klidný porod a kojení. V úvahu je nutné vzít i přání těhotné ženy.

8. Karcinom štítné žlázy v graviditě

Límanová Z.

8.1 Výskyt

Karcinom tyreoidy tvoří asi 1% ze všech malignit a při vyšetřování v neselektované populaci se uvádí pozitivní nález asi v 5% uzlů. V graviditě je tato diagnóza závažným, nikoliv neřešitelným zjištěním. Výskyt karcinomu štítné žlázy v graviditě je většinou uváděn jako obdobný s běžnou populací, ale dosavadní studie zahrnují malé počty a často selektovanou populaci. Početný soubor pochází z registru 4,846.505 těhotných žen, které porodily v Kalifornii. Bylo zachyceno 14,4/100.000 žen s karcinomem tyreoidy a dle očekávání převažoval karcinom papilární. U 75% případů byl karcinom odhalen do 1 roku po porodu, u 24 % před porodem a u cca 1% v době porodu [65].

8.2 Ovlivňuje gravidita růst karcinomu tyreoidy?

Důležitá je úvaha, zda gravidita prognózu karcinomu zhoršuje. Odpověď není jednoznačná: ze 7 publikací, ve kterých byla diagnóza karcinomu stanovena v graviditě nebo do 1 roku po porodu, výsledky 6 studií podporují domněnku, že gravidita prognózu nezhoršila, a k této domněnce se přiklání i ATA r. 2011 [66]. Nicméně jedna studie 15 žen [67] považuje situaci za prognosticky horší a opírá se o nález estrogenních receptorů ve tkáni karcinomu tyreoidy, ale k potvrzení závěrů je nutné získat více informací. Recentní studie připomínají, že mimo estrogenové receptory mohou hrát v graviditě roli i růstové faktory- vše je však v oblasti úvah a výzkumu. Dopad gravidity na medulární a anaplastický karcinom není znám.

8.3 Jak řešit průkaz (podezření) papilárního karcinomu?

Je-li dle FNAB uzel maligní nebo je podezření na malignitu (Bethesda V-VI), měl by se tumor odstranit raději v graviditě, obdobně by se měl řešit uzel, je-li choroba pokročilá, je uzel objemný, nebo uzel v graviditě roste o 50 % objemu a 20 % nejméně v jednom rozměru. Pokud se ve 2. polovině gravidity uzel nemění, může se operovat po porodu, ale je vhodné udržet TSH mezi 0,1-1,5 mIU/l, což někdy vyžaduje podání T4. Kontrola uzlu, monitorování růstu a případných uzlin a vyšetření UZ se doporučuje uskutečnit každý trimestr. Případné opakovaní FNAB a řešení dle etiologie je možné ke konci 2. trimestru. V ČR je zvyklostí postupovat radikálněji, spíše doporučujeme operaci ještě v graviditě, zvláště při podezření na diferencovaný karcinom. Substituce je nezbytná ihned po operaci a udržení TSH v graviditě pod 0,1 mIU/l. Doléčení radiojodem se uskuteční až po ukončení kojení. Nicméně se názor na indikaci k operaci tyreoidy i při průkazu karcinomu tyreoidy různí. S ohledem na vlastnosti nádoru (pomalý růst a skutečnost, že negativní vliv gravidity na růst karcinomu nebyl jednoznačně prokázán), je možné akceptovat dva postupy. První postup, který je uváděn v Doporučení 2011 [2,3] uvažuje o odložení chirurgického výkonu po porodu a bere v úvahu možné i operační riziko pro matku a dítě. Druhý postup, který podporujeme my, je uskutečnění operace ke konci 2. trimestru, s okamžitě zahájenou plnou substitucí a dosažením TSH k hodnotě 0,1 mIU/l co nejdříve. Je-li léčba radiojodem následně indikována, je možné ji odložit až po ukončení kojení. Druhý postup se opírá o následující argumenty: pro matku je představa odkladu plánované operace nepochybně stresem, naopak operace před porodem umožní klidný poporodní průběh a kojení. V rukou zkušeného chirurga není totální tyreoidektomie výkonem delším než 60-90 minut. U žen, které jsme indikovali, jsme nezaznamenali žádnou komplikaci ze strany matky či dítěte. Není však jednoznačný závěr a je tedy možné respektovat přání budoucí matky. Výjimku tvoří mikrokarcinomy, které jsou většinou po určitou dobu stacionární a nízkorizikové, a odložení operace po porodu je tedy možné.

8.4 Gravidita u ženy, již dříve léčené pro diferencovaný karcinom tyreoidy

Po prodělané léčbě radiojodem by žena neměla otěhotnět dříve než za 6 měsíců, důvodem je především ustálení supresní dávky levotyroxinu. Při dodržení tohoto postupu nebyl prokázán negativní vliv léčby radiojodem na fertilitu, průběh gravidity, potrácení či na vývoj dítěte. Je vhodné připomenout, že jedna studie, vycházející z početného souboru 483 žen prokázala vyšší riziko potrácení za 6-12 měsíců po léčbě radiojodem [68], další [69] upozorňuje na přechodné poruchy cyklu po léčbě radiojodem a možný nepatrně časnější nástup menopauzy. Graviditu tyto ženy tedy bezpečně mohou podstoupit po uplynutí nejméně 6, raději však 12 měsíců [68].

Pokud těhotná žena obdržela léčebnou dávku radiojodu a nevěděla, že je těhotná, je namísto úvaha o přerušení těhotenství, pokud gravidita pokračuje, je

nutné sledování plodu a včasná léčba případně vzniklé hypothyreózy. Tyto situace jsou zřejmě vzácné.

Muž, který byl léčen radiojodem, by neměl ženu oplodnit dříve než 3-4 měsíce po aplikaci radiojodu.

8.5 Hladiny TSH u ženy, která prodělala léčbu pro diferencovaný karcinom tyreoidy, při plánování gravidity a v jejím průběhu

U žen, které prodělaly léčbu pro karcinom tyreoidy, cílová hodnota TSH v graviditě závisí na nálezech v prekoncepčním období. Před koncepcí je doporučena raději suprese TSH pod 0,1 mIU/l. V průběhu gravidity pak u žen bez známek choroby a s nízkým rizikem může být TSH v normálním pásmu 0,3-1,5 mIU/l. Je-li persistence choroby, ale žena je bez známek choroby, TSH má být pod 0,1 mIU/l. Pokud žena patří do skupiny s vysokým rizikem, má být TSH 0,1-0,5 mIU/l. Kontrola hladiny TSH jsou nutné, obvykle na počátku gravidity ihned po jejím potvrzení je nezbytné malé zvýšení dávky, uvádí se o 9% v 1. trimestru, o 21% ve druhém a o 26% ve třetím trimestru, ale řešení je vždy individuální [70]. Kontroly po 4 týdnech do 20. týdne v té samé laboratoři jsou potřebné, a jedna kontrola mezi 26.-32. týdnem. Některé ženy potřebují adjustaci dávky i ve 2. trimestru [68]. Hladina Tg by měla být vyšetřena před graviditou a po porodu. Doporučuje se sledování UZ v každém trimestru u žen, které měly vysoký Tg ještě před graviditou nebo byly známky persistence choroby.

8.6 Zvyšuje gravidita riziko rekurence diferencovaného tyreoidálního karcinomu?

Odpověď není jednoznačná, zvýšené riziko však prokázáno nebylo. Jiná situace však je u žen s persistencí choroby. O stimulaci tkáně karcinomu graviditou (estrogeny, růstovými faktory) uvažuje Hirsch [67]. Uvádí, že progresse choroby je možná, i když nemusí být jednoznačně důsledkem gravidity. Je-li žena bez známé choroby („disease free“), není v graviditě nutné sledovat UZ ani hladinu Tg. Jiná je situace u žen s vysokým Tg nebo známkami aktivity choroby – u nich jsou doporučeny kontroly UZ a hladiny Tg každý trimestr. Řešení je individuální – situace jsou vzácné. U žen bez známek aktivity choroby se riziko nezvyšuje, ale stimulace růstu karcinomu u osob se známými strukturálními nebo biochemickými známkami je graviditou možná [65,67]. Těhotenství v těchto případech není indikací k přerušení gravidity.

8.7 Operace štítné žlázy v graviditě u eufunkční ženy

Pokud indikujeme operaci štítné žlázy v graviditě pro podezření z malignity, je samozřejmě nutné vážit možné komplikace pro matku a dítě. Operace ke konci druhého trimestru je však dobře snášena: Studie 113 operací za 22 let většinou ve 2. trimestru nezaznamenala žádné komplikace [62], další studie srovnávající operaci 201 gravidních žen zaznamenala mateřské komplikace ve 4,5% a fetální v 5,5%, ale chybělo srovnání s kontrolním souborem. Okamžitá substituce po operaci je samozřejmostí. U žen s mikrokarcinomem, který je považován za nízkorizikový, je možné vyčkat s operací až po porodu.

9. Screening tyreopatií v graviditě

Jiskra J.

9.1 Úvod

Přestože panuje shoda, že neléčené manifestní i subklinické tyreopatie a dokonce i pozitivní tyreoidální protilátky s normální funkcí mají negativní vliv na průběh gravidity a vývoj plodu, zůstává screening tyreopatií v těhotenství stále kontroverzním tématem. Obecné podmínky univerzálního screeningu a jejich naplnění jsou uvedeny v Tabulce 6 [71]. Světové odborné, především endokrinologické společnosti, dosáhly konsensu v tom, že screening je potřebný, není ale dosud jednotný názor na jeho konkrétní podobu. Posun nastal v tom, že za rizikový faktor je považován věk nad 30 let [2, 3].

Hlavní rozpory jsou v rozsahu screeningu (univerzální nebo cílený na rizikové skupiny), ve vyšetřovaných parametrech, v otázce kdy a kým má být screening realizován, jak má být financován, kdo se na něm má podílet, a částečně také, jak se mají ženy s pozitivním výsledkem screeningu léčit. V průběhu pokračujících diskuzí se odborníci k univerzálnímu screeningu stále častěji přiklánějí [4].

9.2 Rozsah screeningu - univerzální nebo cílený?

Celosvětově dosud nebylo dosaženo konsenzu, zda má být screening univerzální (celoplošný) nebo má být cílený na rizikové skupiny žen („case-finding screening“) [2, 3] (Tabulka 7).

Hlavními argumenty odpůrců univerzálního screeningu jsou nedostatek randomizovaných kontrolovaných studií (RCT), které by prokázaly, že léčba subklinické hypotyreózy a žen s pozitivními tyreoidálními protilátkami a normální funkcí redukuje komplikace v těhotenství či pozitivně ovlivňuje vývoj dětí. Randomizovaných studií, o které se opírají jak zastánci, tak odpůrci univerzálního screeningu, je málo a mají často závažné limitace [4, 21, 22, 55, 71-73]. Další studie dále probíhají, na jejich výsledky však budeme muset ještě několik let počkat („A Randomized Trial of Thyroxine Therapy for Subclinical Hypothyroidism or Hypothyroxinemia Diagnosed During Pregnancy“, „The Effect of Thyroid Hormone Levels in Pregnant Women on the Intelligence Quotient (IQ) of Their Children“).

Skutečností je, že při realizaci case-finding screeningu (cíleného na rizikové skupiny), který podporují poslední světová doporučení [1], nejméně 25-50 % žen

Tabulka 6. Obecné podmínky pro zavedení univerzálního systematického screeningu, které jsou/nejsou splněny (upraveno podle [71])

Představuje onemocnění důležitý problém veřejného zdraví?	Ano
Jsou příčiny a epidemiologická data onemocnění přiměřeně prozkoumány?	Ano
Existuje efektivní primární prevence?	Ne
Existuje jednoduchý, bezpečný a přesný screeningový test?	Ano
Existuje jasná hranice positivity screeningového testu a je dán další postup u subjektů, které jsou v testu pozitivní?	Částečně
Existuje účinná léčba?	Ano
Existuje na důkazech založená shoda o tom, které subjekty mají a které nemají být léčeni?	Ne
Existuje důkaz získaný randomizovanou kontrolovanou studií o tom, že screening zlepšuje zdravotní stav populace?	Ne
Převažuje benefit screeningu nad riziky plynoucími ze screeningového testu nebo další vyšetřování či léčby?	Ano
Je screening nákladově efektivní („cost effective“)?	Ano

Tabulka 7. Přehled doporučení světových společností v otázce screeningu tyreopatií v graviditě a vývoj názorů v posledních letech (upraveno podle [71])

Autorita	Rok	Doporučení
American Association of Clinical Endocrinologists	2002	Univerzální screening
Expert panel of American Thyroid Association, American Association of Clinical Endocrinologists and The Endocrine Society	2004	Case-finding screening
Second panel of American Thyroid Association, American Association of Clinical Endocrinologists and The Endocrine Society	2005	Univerzální screening
British Thyroid Association, Association of Clinical Biochemists, British Thyroid Foundation. UK guidelines for the Use of thyroid Function Tests	2006	Case-finding screening
American College of Obstetrics and Gynecology	2007	Case-finding screening
The Endocrine Society	2007	Case-finding screening
The American Thyroid Association Taskforce on Thyroid Disease During Pregnancy and Postpartum	2011	Case-finding screening
The Endocrine society	2012	Část expertů doporučuje univerzální screening

s abnormalitami v tyreoidálních laboratorních testech uniká diagnóze (obr. 2). Rozšíření dosavadních rizikových faktorů o věk nad 30 let dle doporučení ATA 2011 ([2, 3], Tabulka 8) významně zvýší procento těhotných žen, které budou ve screeningu laboratorně vyšetřeny, což je sice pozitivní, avšak racionální základ toto doporučení nemá a je zjevně kompromisem. Ukázalo se totiž, že věk nad 30 let není významným rizikovým faktorem pro záchyt tyreopatií v těhotenství a že věk riziko tyreopatií u těhotných žen nijak významně neovlivňuje [74].

Efektivitu cíleného screeningu by nepochybně zlepšila forma dotazníku, který by všechny těhotné ženy při první návštěvě u gynekologa vyplnily. Informace, které ČES JEP ČLS poskytuje praktickým (rodinným) lékařům pro ženy ve fertilním věku nepochybně prospějí lepšímu chápání celé složité problematiky. Spolupráce s nimi se slibně rozvíjí.

Tabulka 8. Ženy, které mají zvýšené riziko tyreopatie v těhotenství [3]

Tyreopatie v OA nebo RA
Věk nad 30 let
Příznaky tyreoidální dysfunkce nebo struma
Pozitivní Anti-TPO
DM 1. typu nebo jiné autoimunitní onemocnění
Potrat nebo předčasný porod v anamnéze
Ozáření hlavy a/nebo krku v anamnéze
Obezita s BMI ≥ 40 kg/m ²
Užívání amiodaronu, lithia, aplikace cytokinů, nedávná aplikace jodového RTG kontrastu
Infertilita
Žena žije v oblasti se středním či těžkým jodovým deficitem

9.3 Načasování screeningu

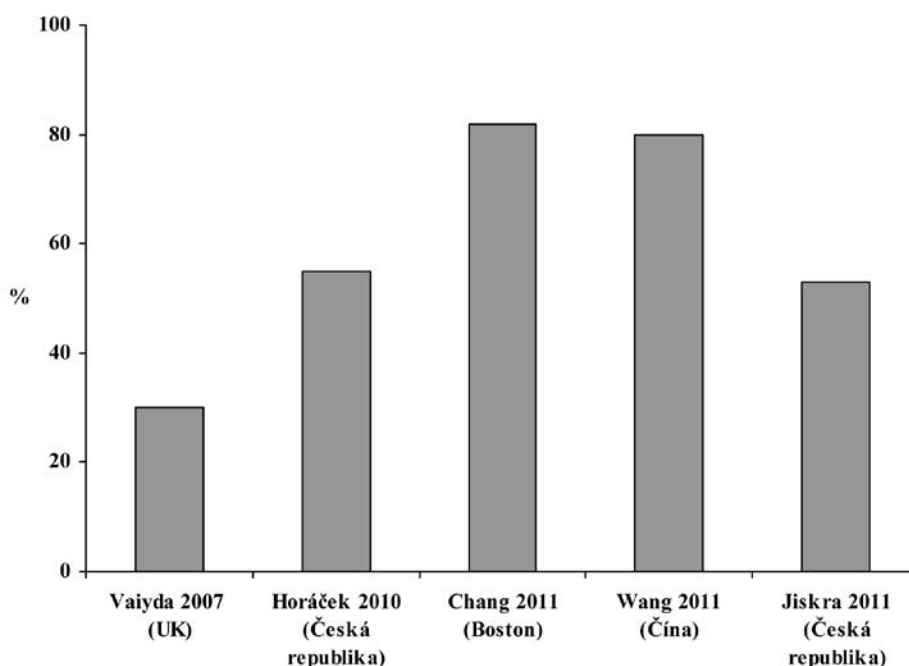
Závažnou a diskutovanou otázkou je načasování screeningu. Štítná žláza plodu začíná tvořit tyreoidální hormony od 12. gestačního týdne, nicméně až do 18.-20. týdne je sekrece nedostatečná a plod je závislý na mateřském tyroxinu. Mateřský tyroxin je zřejmě v určitém množství nutný i v dalších fázích těhotenství. Kritické období vývoje CNS spojené s radiální migrací neuronů do mozkové kůry začíná již v 11. gestačním týdnu [79], možná i dříve. Plod je tedy do 12. týdne zcela a později minimálně částečně závislý na sekreci tyroxinu matkou. Podle doporučení ATA 2011 je vhodné, aby žena plánující graviditu neměla TSH v krvi vyšší než 2,5 mIU/l [2, 3]; přesněji řečeno by TSH nemělo být vyšší než je horní limit dané metody snížený o 1,5 mIU/l, nebo nejlépe horní limit normálního rozmezí pro 1. trimestr gravidity, pokud jsou normy pro danou metodu pro těhotné ženy k dispozici.

9.3.1 Těhotenský screening

V případě těhotenského screeningu je optimální odběr v 5.-6. týdnu gravidity a má zahrnout kromě TSH vždy i Anti-TPO. TSH (a rovněž FT4) může být v této časné fázi těhotenství i falešně negativní. Druhou možností je využít prvního krevního odběru v těhotenství v rámci screeningu vrozených vývojových vad a HBsAg v 1. trimestru (9.-11. týdnu gravidity). Pokud screening v 1. trimestru není proveden, pak je vhodné jej realizovat alespoň při vyšetření v 16. týdnu gravidity při odběru na klasický „triple test“, tento odběr však nezachytí důležité období pro vývoj plodu v prvním trimestru. Využití spolupráce s praktickými lékaři je v začátcích. O obecných problémech s časnými krevními odběry v graviditě svědčí i práce Lazaruse [11].

9.3.2 Prekoncepční screening

Screening prekoncepční je zřejmě optimální. Toho lze reálně dosáhnout u žen, které se již s tyreopatie-



Obr. 2. Únik ze screeningu v případě strategie case-finding

Vaiyda et al. 2007[75], Chang et al. 2011 [76], Wang et al. 2011 [77]: hypotyreóza; Horáček et al. 2010 [26], Jiskra et al. 2011 [78]: hypotyreóza a/nebo pozitivní Anti-TPO

mi léčí, nebo byly vyšetřeny a jsou sledovány, anebo u žen, které o svém zvýšeném riziku vědí a které se o svůj zdravotní stav zajímají. Úloha praktických lékařů, praktických lékařů dětí a dorostu, endokrinologů, pediatriů či gynekologů je v těchto případech jednoznačná. Organizovaný univerzální prekoncepční screening nelze v současné době považovat za reálný, a není ani jasná doba, po kterou by vyšetření bylo možné považovat za validní. Celosvětové diskuze se na prekoncepční screening nezaměřují.

9.4 Co v rámci screeningu vyšetřovat?

Každý z navrhovaných ukazatelů (TSH/Anti-TPO/FT4) přináší jiné informace. Pozitivní Anti-TPO přináší důležitou informaci o možném snížení tyreoidální rezervy v průběhu gravidity (i když vstupní TSH i FT4 mohou být normální), rozvoji poporodní tyreoiditidy a vzniku porodnických komplikací (potraty, předčasné porody apod.) (viz kapitola 7). Vyšetření Anti-TPO by mělo být provedeno vždy, tj. jak ve screeningu prekoncepčním tak v časné fázi gravidity (5.-6. týden), kdy se možná snížená funkční tyreoidální rezerva nemusí ještě projevit změnami TSH a/nebo FT4. TSH je nejspolehlivější a nejstandardizovanější parametr k posouzení periferní poruchy tyreoidální funkce. Za určitých okolností však může být TSH ještě normální a jediným patologickým nálezem může být snížený FT4 (např. u jodového deficitu, reakce na vyšší potřebu sekrece tyreoidálních hormonů v těhotenství při vzestupu TBG, vzácně i při snížené reaktivitě tyreotropů hypofýzy). V současné době však nejsou pro FT4 v graviditě (navíc vyšetřovaného různými metodami), jednotné normy, což činí hodnocení FT4 v graviditě poněkud problematickým.

Za předpokladu suplementace všech těhotných žen jodem (100 µg denně) a s přihlédnutím k ekonomickým aspektům se pro těhotenský screening jeví v podmínkách České republiky jako nejvýhodnější kombinace TSH a Anti-TPO.

9.5 Jak postupovat při pozitivním screeningu?

V případě pozitivního screeningu, tj. kteréhokoliv z vyšetřených ukazatelů, musí definitivní diagnózu a rozhodnutí o event. léčbě určit endokrinolog. Farmakologická léčba by měla být zahájena u všech žen s manifestní hypertyreózou a se subklinickou hypotyreózou s pozitivními Anti-TPO. Přístup k léčbě žen s mírnou elevací TSH a negativními Anti-TPO a eutyreózních žen s pozitivními Anti-TPO není dosud přesně vymezen: měl by být individuální s ohledem RA a OA, na nález na ultrazvuku štítné žlázy, titry Anti-TPO, sérové koncentrace TSH a FT4 a další okolnosti (viz kapitola 3). Není chybou zahájit léčbu podle výše uvedených zásad (potenciální benefit a nevýznamné riziko) ani léčbu nezahajovat a pouze sledovat vývoj; rozhodnutí bude záviset na preferenci endokrinologa. Síla tohoto doporučení je menší pro absenci jednoznačných důkazů. Léčbu izolované hypotyroxinémie levotyroxinem v graviditě ATA 2011 rutinně nedoporučuje. Podrobně pojednávají o léčbě a sledování žen s tyreopatiemi v graviditě (viz kapitoly 4, 6, 7).

9.6 Finanční zajištění screeningu

V odborné literatuře byly dosud publikovány 2 „cost-effectiveness“ analýzy, které obě ukázaly, že univerzální screening je - přes všechny rozpory a trvající diskuze - nákladově efektivní [33,72,73]. Analýza nákladové efektivity je závislá na konkrétních socioekonomických podmínkách země. V České republice dosud žádná „cost-effectiveness“ či „cost-benefit“ analýza provedena nebyla. Orientační analýza nákladů na univerzální screening u skupiny 5520 náhodně vybraných těhotných žen ukázala, že v podmínkách České republiky byly náklady na 1 pozitivní výsledek screeningu (patologické TSH a/nebo pozitivní Anti-TPO) 3546 Kč, na záchyt jedné hypotyreózy 2685 Kč a na záchyt 1 ženy s pozitivními Anti-TPO 3850 Kč [80].

Univerzální screening je zřejmě nejefektivnější strategií k záchytu klinicky významných tyreopatií v těhotenství, přesto se ho nepodařilo ve většině světových zemí dosud prosadit. V současné době je v České republice možné a doporučené u všech těhotných žen uskutečnit cílené-„case-finding“-vyhledávání při vstupním gynekologickém vyšetření zhodnocením rizikových faktorů podle Tabulky 8 (ústně nebo formou dotazníku). Pokud je alespoň jeden z nich pozitivní, je vhodné realizovat laboratorní screening TSH a Anti-TPO, a pak jsou tyto ukazatele plně hrazeny ze zdravotního pojištění. Reálnou možností je zahrnout univerzální screening tyreopatií (stanovení TSH a Anti-TPO) u všech těhotných žen v 1. trimestru gravidity (ideálně v rámci prenatalního gynekologického screeningu), a u žen plánujících graviditu mezi nadstandardní vyšetření za přímou úhradu. Podmínkou je, že ženy budou o této možnosti přiměřeně informovány u svého gynekologa a praktického lékaře. ČES ČLS JEP bude nadále jednat s pojišťovnami o zařazení screeningu tyreopatií v těhotenství do hrazených výkonů.

Seznam použitých zkratk

ATA	The American Thyroid Association
ETA	The European Thyroid Association
TSH	Tyreoidu stimulující hormon
T4	celkový tyroxin
FT4	volný tyroxin
T3	trijodtyronin
FT3	volný trijodtyronin
HCG	choriový gonadotropin
TBG	thyroxine binding globulin
CLT	chronická lymfocytární tyreoiditida
GB	Graves-Basedowova choroba
Tx	hypertyreóza
PPT	poporodní tyreoiditida
ThAb	tyreoidální protilátky
Anti-TPO	protilátky proti tyreoidální peroxidáze
Anti-Tg	protilátky proti tyreoglobulinu
SH	subklinická hypotyreóza
TRAK	protilátky proti TSH receptoru (Anti-TSH-R)
ICCIDD	International Committee for Control of Iodine Deficiency Disorders

IFCC	International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
IVF	in vitro fertilizace
IVD	in vitro diagnostika
FNAB	biopsie tenkou jehlou
RCT	randomizované kontrolované studie
UZ	ultrazvuk štítné žlázy

Literatura

1. **Abalovich, M., Nobuyuki, A., Barbour, L. A. et al.** Clinical Practice Guideline. Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 2007, Aug 92 (8 Suppl), S1-47.
2. **Stagnaro-Green, A., Abalovich, M., Alexander, E., Azizi, F., Mestman, J., Negro, R., Nixon, A., Pearce, E. N., Soldin, O. P., Sullivan, S., Wiersinga, W.** Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. *Thyroid*, 2011a, 21, p. 1-45.
3. **Stagnaro-Green, A., Schwartz, A., Gismondi, R., Tinelli, A., Mangieri, T., Negro, R.** High rate of persistent hypothyroidism in a large-scale prospective study of postpartum thyroiditis in southern Italy. *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 2011b, 96, p. 652-657.
4. **DeGroot, L., Abalovich, M., Alexander, E. K. et al.** Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum: An Endocrine Society practice guidelines. *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012, 97, p. 2543-2565.
5. **Zamrazil, V., Bilek, R., Cerovska, J., Delange, F.** The elimination of iodine deficiency in the Czech Republic: the steps toward success. *Thyroid*, 2004, 14, p. 49-56.
6. **Gliñoer, D., Soto, M. F., Bourdoux, P. et al.** Pregnancy in patients with mild thyroid abnormalities: maternal and neonatal repercussions. *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 1991, 73, p. 421-427.
7. **Krassas, G. E., Poppe, K., Gliñoer, G.** Thyroid function and human reproductive health. *Endocr. Rev.*, 2010, 31, 5, p. 702-55.
8. **Límanová, Z., Zamrazil, V.** Má být zaveden screening funkčních tyreoidálních onemocnění u dospělých v České republice? *DMEV*, 2004, 7, 3, p. 124-130.
9. **Springer, D., Horáček, J., Hauerová, D. et al.** Poruchy štítné žlázy v těhotenství- souhrn výsledků nezávislých studií. *Čes. Gynék.*, 2007, 72, 6, p. 375-381.
10. **Límanová, Z., Springer, D.** Současné zkušenosti s vyšetřováním tyreopatií v graviditě- výsledky pilotního projektu. *Čas. Lék. Čes.*, 2011, 150, p. 389-393.
11. **Lazarus, J. H., Betswick, J. P., Channon, S., Paradice, R., Maina, A., Ries, R., Chiusano, E., John, R., Guaraldo, V., George, L. M., Perona, M., Dall'Amico, D., Parkes, A. B., Joomun, M., Wald, N. J.** Antenatal thyroid screening and childhood cognitive function. *New Engl. J Med.*, 2012, 366, p. 493-501.
12. **Ghassabian, A., Bongers-Schokking, J. J., De Rijke, Y. B. et al.** Maternal thyroid autoimmunity during pregnancy and the the risk of attention deficit/hyperactivity problems in children: the Generation R Study. *Thyroid*, 2012, 22, 2, p. 178-186.
13. **Brent, G. A.** The debate over thyroid-function screening in pregnancy. *New Engl. J Med.*, 2012, 366, 6, p. 562-563.
14. **Osorio, J.** Thyroid screening in pregnancy- no effect on child cognition? *Nature Reviews Endocrinology*, 2012, 8, p. 193.
15. **Morreale de Escobar, G., Obregon, M. J., Escobar del Rey, F.** Maternal thyroid hormones early in pregnancy and fetal brain development. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2004, 18, p. 225-248.
16. **Williams, G. R.** Neurodevelopment and neurophysiological actions of thyroid hormone. *Journal of Neuroendocrinology*, 2008, 20, 6, p. 784-794.
17. **Springer, D., Zima, T., Limanova, Z.** Reference intervals in evaluation of maternal thyroid function during the first trimester of pregnancy. *Eur. J Endocrinol.*, 2009, 160, p. 791-797.
18. **McKenzie, J. M., Zakarija, M.** Fetal and neonatal hyperthyroidism and hypothyroidism due to maternal TSH receptorantibodies. *Thyroid*, 1992, 2, p. 155-159.
19. **Benhadi, N., Wiersinga, W. M., Reitsma, J. B., Vrijkotte, T. G. M., Bonsel, G. J.** Higher maternal TSH levels in pregnancy are associated with increased risk for miscarriage, fetal and neonatal death. *Eur. J Endocrinol.*, 2009, 160, p. 985-991.
20. **Casey, B. M., Dashe, J. S., Wells, C. E., McIntire, D. D., Leveno, K. J., Cunningham, F. G.** Subclinical hyperthyroidism and pregnancy outcomes. *Obstet. Gynecol.*, 2006, 107 (2 Pt 1), p. 337-341.
21. **Negro, R., Formoso, G., Mangieri, T., Pezzarossa, A., Dazzi, D., Hassan, H.** Levothyroxine treatment in euthyroid pregnant women with autoimmune thyroid disease: effects on obstetrical complications. *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 2006, 91, p. 2587-2591.
22. **Negro, R., Schwartz, A., Gismondi, R., Tinelli, A., Mangieri, T., Stagnaro-Green, A.** Universal screening versus case finding for detection and treatment of thyroid hormonal dysfunction during pregnancy. *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 2010, 95, p. 1699-1707.
23. **Alexander, E. K., Marqusee, E., Lawrence, J., Jarolim, P., Fischer, G. A., Larsen, R.** Timing and magnitude of increases in levothyroxine requirements during pregnancy in women with hypothyroidism. *New Engl. J Med.*, 2004, 351, p. 349-353.
24. **Yassa, L., Marqusee, E., Fawcett, R., Alexander, E. K.** Thyroid hormone early adjustment in pregnancy (the THERAPY trial). *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 2010, 95, p. 3234-3241.
25. **Pop, V., Brouwers, E. P., Vader, H. L., Vulsma, T., Van Baar, A. L., De Vijlder, J. J.** Maternal hypothyroxinaemia during early pregnancy and subsequent child development: a 3-year follow-up study. *Clin. Endocrinol.*, 2003, 59, 282-288.
26. **Horáček, J., Špitálníková, S., Dlabalová, B. et al.** Universal screening detects two-times more thyroid disorders in early pregnancy than targeted high-risk case finding. *Eur. J Endocrinol.*, 2010, 163, p. 645-650.
27. **Negro, R., Soldin, O. P., Obregon, M. J., Stagnaro-Green, A.** Hypothyroxinemia and pregnancy. *Endocr. Pract.* 2011a, 17, p. 422-429.
28. **Bath, S. C., Rayman, M. P.** Antenatal thyroid screening and childhood cognitive function *New Engl. J Med.*, 2012, 366, 17, p. 1640-1.
29. **Gliñoer, D., Riahi, M., Grun, J. P., Kinthaert, J.** Risk of subclinical hypothyroidism in pregnant women with asymptomatic autoimmune thyroid disorders. *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 1994, 79, p. 197-204.
30. **Negro, R., Schwartz, A., Gismondi, R., Tinelli, A., Mangieri, T., Stagnaro-Green, A.** Thyroid antibody positivity in the first trimester of pregnancy is associated with negative pregnancy outcomes. *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 2011b, 96, E920-E924.
31. **Negro, R., Stagnaro-Green, A.** Thyroid antibodies, preterm birth, and miscarriage. The association is clear,

- but the effects of levothyroxine treatment are uncertain. *Brit. Med. J* 2011c, 342, d2260.
32. **Thangaratnam, S., Tan, A., Knox, E., Kilby, M. D., Franklyn, J., Coomarasamy, A.** Association between thyroid autoantibodies and miscarriage and preterm birth: meta-analysis of evidence. *Brit. Med. J*, 2011, 342, d2616.
 33. **Dosiou, C., Barnes, J., Schwartz, A., Negro, R., Crapo, L., Stagnaro-Green, A.** Cost-effectiveness of universal and risk-based screening for autoimmune thyroid disease in pregnant women. *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012, 97, p. 1536-1546.
 34. **Galofre, J. C., Haber, R. S., Mitchell, A. A., Pessah, R., Davies, T. F.** Increased postpartum thyroxine replacement in Hashimoto's thyroiditis. *Thyroid*, 2010, 20, p. 901-908.
 35. **Delange, F.** Optimal iodine nutrition during pregnancy, lactation and the neonatal period. *J Clin. Endocr. Metab.*, 2004, 2, p. 1-12.
 36. **Zimmermann, M., Delange, F.** Iodine supplementation of pregnant women in Europe. A review and recommendation. *Eur. J Clin. Nutr.*, 2004, 58, p. 979-84.
 37. **Zamrazil, V., Bilek, R., Čerňovská, J., Dvořáková, M., Němeček, J.** Jodový deficit ve světě i v České republice - současný stav a perspektivy. *Vnitř. Lék.* 2010, 56(12), p. 1310-1315
 38. **Braverman, L. E., Utiger, R. D.** Introduction to thyrotoxicosis., 2005 In: *Braverman LE, Utiger RD (eds) Werner and Ingbar's The Thyroid: A Fundamental and Clinical Text*, 9th edition. Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, p. 453-455.
 39. **Patil-Sisodia, K., Mestman, J. H.** Graves hyperthyroidism and pregnancy: a clinical update. *Endocr. Pract.*, 2010, 16, p. 118-129.
 40. **Tan, J. Y., Loh, K. C., Yeo, G. S., Chee, Y. C.** Transient hyperthyroidism of hyperemesis gravidarum. *BJOG*, 2002, 109, p. 683-688.
 41. **Niebyl, J. R.** Clinical practice. Nausea an pregnancy. *N. Engl. J. Med.*, 2010, 363, p. 1544-1550.
 42. **Russo, M. W., Galanko, J. A., Shrestha, R., Fried, M. W.** Subclinical hyperthyroidism and pregnancy outcomes. *Obstet. Gynecol.*, 2006, 107 (2 Pt 1), p. 337-341.
 43. **Clementi, M., Di Gianantonio, E., Pelo, E. et al.** Methimazole embryopathy: delineation of the phenotype. *Am. J Med. Genet.*, 1999, 83, p. 43-46.
 44. **Barbero, P., Valdez, R., Rodriguez, H. et al.** Choanal atresia associated with maternal hyperthyroidism treated with methimazole: a case-control study. *Am. J Med. Genet.*, 2008 A, 146A, p. 2390-2395.
 45. **Clementi, M., Di Gianantonio, E., Cassina, M. et al.** Treatment of hyperthyroidism in pregnancy and birth defects. *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 2010, 95, E337-341.
 46. **Cassina, M., Dona, M., Di Gianantonio, E. et al.** Pharmacologic treatment of hyperthyroidism during pregnancy. *Birth Defects Res. Clin. Mol. teratol.*, 2012, 94, 8, p. 612-619.
 47. **Yoshira, A., Noh, J., Yamaguchi, T. et al.** Treatment of Grave's disease with antithyroid drugs in the first trimester of pregnancy and the prevalence of congenital malformation. *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012, 97, 7, p. 2396-2403.
 48. **Rubin, P. C.** Current concepts: beta-blockers in pregnancy. *N. Engl. J Med.*, 1981 305, p. 1323-1326.
 49. **Stafford, I. P., Dildy, G. A. 3rd, Miller, J. M. Jr.** Severe Graves' ophthalmopathy in pregnancy. *Obstet. Gynecol.*, 2005 May, 105 (5 Pt 2), p. 1221-1223.
 50. **Carmichael, S. L., Shaw, G. M., Ma, C., Werler, M. M., Rasmussen, S. A., Lammer, E. J.** National Birth Defects Prevention Study. Maternal corticosteroid use and orofacial clefts. *Am. J Obstet. Gynecol.*, 2007, 197(6), 585. e1-7, discussion 683-684, e1-7.
 51. **Lee, M., O'Brien, P.** Pregnancy and multiple sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 2008, 79, p. 1308-1311.
 52. **Nüssgens, Z., Roggenkämper, P., Schweikert, H. U.** Development of endocrine orbitopathy in pregnancy. *Klin. Monbl. Augenheilkd.*, 1993, Feb 202(2), p. 130-133.
 53. **Achiron, A., Kishner, I., Dolev, M., Stern, Y., Dulitzky, M., Schiff, E., Achiron, R.** Effect of intravenous immunoglobulin treatment on pregnancy and postpartum-related relapses in multiple sclerosis. *J Neurol.*, 2004, 251(9), p. 1133-1137.
 54. **Haas, J.** High dose IVIG in the post partum period for prevention of exacerbations in MS. *Mult. Scler.*, 2000, 6 Suppl 2, 18-20; discussion S33.
 55. **Negro, R., Mangieri, T., Coppola, L., Presicce, G., Casavola, E. C., Gismondi, R.** Levothyroxine treatment in thyroid peroxidase antibody-positive women undergoing assisted reproduction technologies: a prospective study. *Hum. Reprod.*, 2005, 20, p. 1529-33.
 56. **Jiskra, J., Bartáková, J., Holinka, S., Límanová, Z., Springer, D., Fait, T., Antošová, M., Telička, Z., Potluková, E.** Low concordance between positive antibodies to thyroperoxidase and thyroid ultrasound autoimmune pattern in pregnant women. *Endocr. J.*, 2011, Oct 29, 58(10), p. 849-59. Epub 2011 Aug 27.
 57. **Hartl, D. M., Travagli, J. P.** The Updated American Thyroid Association Guidelines for Management of Thyroid Nodules and Differentiated thyroid cancer. A surgical perspective *Thyroid*, 2009, 19, 11, p. 1149-1151.
 58. **Struve, C. V., Haupt, S., Ohlen, S.** Influence in frequency of previous pregnancies on the prevalence of thyroid nodules in women without clinical evidence of thyroid disease. *Thyroid*, 1993, 3, p. 7-9.
 59. **Kung, A. V., Chau, M. T., Lao, T. T. et al.** The effect of pregnancy on thyroid nodule formation. *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002, 87, p. 1010-1014.
 60. **Hegedus, L., Bonnema, S. J., Bennedbaek, F. N.** Management of simple nodular goiter: current status and future perspectives. *Endocr. Rev.*, 2003, 24, p. 102-132.
 61. **Costante, G., Meringolo, D., Durante, C. et al.** Predictive value of serum calcitonin levels for preoperative diagnosis of medullary thyroid carcinoma in a cohort of 5817 consecutive patients with thyroid nodules. *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 2007, 92, p. 450-455.
 62. **Tan, G. H., Gharib, H., Goellner, G. H. et al.** Management of thyroid nodules in pregnancy. *Arch. Intern. Med.*, 1996, 156, p. 122-125.
 63. **Marley, F., Oertel, Y. C.** Fine needle aspiration of thyroid lesions in 57 pregnant and Postpartum women. *Diagn. Cytopathol.*, 1997, 16, p. 122-125.
 64. **Rosen, I. B., Walfish, P. G.** Pregnancy as a predisposing factor in thyroid neoplasia. *Arch. Surg.*, 1986, 121, p. 1287-1290.
 65. **Smith, L. H., Danielsen, B., Allen, M. E. et al.** Cancer associated with obstetric delivery: results of linkage with the California cancer registry. *Am. J Obstet. Gynecol.*, 2003, 189, p. 1128-1135.
 66. **Gibelli, B., Zamperini, P., Tradati, N.** Pregnancy and thyroid cancer. *Recent Results Cancer Res.*, 2008, 178, p. 123-136.
 67. **Hirsch, D., Levy, S., Tsvetov, G. et al.** Impact of pregnancy on outcome and prognosis of survivors of papillary thyroid cancer. *Thyroid*, 2010, 20, p. 1179-1185.

68. **Garsi, J. P., Schlumberger, M., Rubino, C. et al.** Therapeutic administration of 1311 for differentiated thyroid cancer: radiation dose to ovaries and outcome of pregnancies. 2008 *J Nucl. Med.*, 2008, 49, p. 845-852.
69. **Sawka, A. M., Lakra, D. C., Lea, J. et al.** A systematic review examining the effect of therapeutic radioactive iodine on ovarian function and future pregnancy in female thyroid cancer survivors. *Clin. Endocrinol.*, (Oxf) 2008, 69, p. 479-490.
70. **Pacini, F., Schlumberger, M., Dralle, H. et al.** European Thyroid Cancer Taskforce 2006 European consensus for the management of patients with differentiated thyroid carcinoma of the follicular epithelium. *Eur. J Endocrinol.*, 2006, 154, p. 787-803.
71. **Lazarus, J. H.** Thyroid screening in pregnancy. In: *Lazarus, J. H., Pirags, V., Butz, S. The thyroid and reproduction. Merck European Thyroid Symposium*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2008, p. 105-113.
72. **Dosiou, C., Sanders, G. D., Araki, S. S., Crapo, L. M.** Screening pregnant women for autoimmune thyroid disease: a cost-effectiveness analysis. *Eur. J Endocrinol.*, 2008, Jun, 158(6), p. 841-51.
73. **Thung, S. F., Funai, E. F., Grobman, W. A.** The cost-effectiveness of universal screening in pregnancy for subclinical hypothyroidism. *Am. J Obstet. Gynecol.*, 2009, Mar (3), 267.e1-7. Epub 2008 Dec 27.
74. **Potlukova, E., Potluka, O., Jiskra, J., Limanova, Z., Telička, Z., Bartakova, J., Springer, D.** Is Age a Risk Factor for Hypothyroidism in Pregnancy? An Analysis of 5223 Pregnant Women. *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012, Mar 21, [Epub ahead of print]
75. **Vaiyda, B., Anthony, S., Bilous, M. et al.** Detection of thyroid dysfunction in early pregnancy: Universal screening or targeted high risk case finding? *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 2007, 92, p. 203-207.
76. **Chang, D. L., Leung, A. M., Braverman, L. E. et al.** Pearce EN. Thyroid testing during pregnancy at an academic Boston Area Medical Center. *J Clin. Endocrinol. Metab.* 2011, Sep, 96(9), E1452-6. Epub 2011 Jun 29.
77. **Wang, W., Teng, W., Shan, Z., Wang, S., Li, J., Zhu, L., Zhou, J., Mao, J., Yu, X., Li, J., Chen, Y., Xue, H., Fan, C., Wang, H., Zhang, H., Li, C., Zhou, W., Gao, B., Shang, T., Zhou, J., Ding, B., Ma, Y., Wu, Y., Xu, H., Liu, W.** The prevalence of thyroid disorders during early pregnancy in China: the benefits of universal screening in the first trimester of pregnancy. *Eur. J Endocrinol.*, 2011, Feb, 164(2), p. 263-268. Epub 2010 Nov 8.
78. **Jiskra, J., Bartáková, J., Holinka, Š., Límanová, Z., Springer, D., Antořová, M., Telička, Z., Potluková, E.** Low prevalence of clinically high-risk women and pathological thyroid ultrasound among pregnant women positive in universal screening for thyroid disorders. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.*, 2011 Oct, 119(9), p. 530-535. Epub 2011 Aug 2.
79. **Auso, E., Lavado-Autric, R., Cuevas, E. et al.** A moderate and transient deficiency of maternal thyroid function at the beginning of fetal neocortico-genesis alters neuronal migration. *Endocrinology*, 2004, 145, p. 4037-4044.
80. **Telička, Z., Jiskra, J., Springer, D.** Simple Method of Economical Analysis of Diagnosis Procedure (Used in Screening of Thyroid Gland Diseases in Pregnant Women) during the first trimester of pregnancy. *European Journal for Biomedical Informatics*, Prague 2010; online: <http://ejbi.cz/articles/201012/59/1.html>
- Doporučení vzniklo ve spolupráci odborníků České endokrinologické společnosti ČLS JEP a České společnosti klinické biochemie ČLS JEP; výborem ČSKB ČLS JEP bylo schváleno 10. 12. 2012.*
- Doporučení bylo zveřejněno v časopise Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa (DMEV, ročník 16, č. 1, 2013), vychází se souhlasem redakce i vydavatele časopisu.*