

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Laboratorní diagnostika onemocnění hypofýzy
Bakalářská práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Ivana Neusserová**
Osobní číslo: **C18263**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Laboratorní diagnostika onemocnění hypofýzy**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

- 1) Na základě informací z literatury uspořádejte základní informace o onemocněních hypofýzy.
- 2) Blíže se zaměřte na laboratorní parametry vyšetřované v souvislosti s onemocněními hypofýzy.
- 3) Věnujte pozornost také metodice stanovení jednotlivých parametrů v lidském biologickém materiálu, včetně podmínek pro odběr, transport a uchování vzorku.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Pavla Žáková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021.

Prohlašuji:

Práci s názvem Laboratorní diagnostika onemocnění hypofýzy jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 9.7.2021

Ivana Neusserová

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala vedoucí své bakalářské práce Mgr. Pavle Žákové, Ph.D. za odborné vedení, její trpělivost, ochotný přístup a připomínky v průběhu celé práce. Poděkování patří i mé rodině, která mě podporovala během celého studia na univerzitě.

ANOTACE

V této bakalářské práci se věnuji onemocněním hypofýzy, a jakým způsobem je laboratorně diagnostikovat. Na začátku práce uvádím stručný popis hypofýzy a funkci hormonů, které jsou sekretovány hypofýzou. V další kapitole je popsán průběh onemocnění a jeho příznaky. Dále se věnuji funkčním testům a imunoanalytickým metodám. V závěru uvádím faktory, které ovlivňují hladinu hormonu při měření.

KLÍČOVÁ SLOVA

hypofýza, onemocnění, hormony, diagnostika

TITLE

The laboratory diagnostics of hypophysis diseases

ANNOTATION

In this bachelor's thesis I observe diseases of hypophysis and how to diagnose them in the laboratory. At the beginning of the work I give a brief description of hypophysis and the function of hormones that are secreted by the hypophysis. The next chapter describes process of the disease and its symptoms. I also deal with functional tests and immunoanalytical methods. Finally, I present the factors that affect the level of hormone in the measurement.

KEYWORDS

pituitary gland, diseases, hormones, diagnostics

Obsah

SEZNAM ILUSTRACÍ	9
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	10
ÚVOD	12
1 Hypofýza.....	13
1.1 Osa HYPOTALAMUS-HYPOFÝZA.....	13
1.2 Regulace činnosti hypofýzy	14
1.3 Adenohypofýza	16
1.3.1 Funkce hormonů adenohypofýzy.....	16
1.4 Neurohypofýza	19
1.4.1 Funkce hormonů	19
2 Onemocnění	21
2.1 Gigantismus a akromegalie	21
2.2 Nedostatek růstového hormonu.....	24
2.3 Cushingůvsyndrom	26
2.4 Hyperprolaktinémie.....	28
2.5 Diabetes insipidus	30
2.6 Syndrom neadekvátní sekrece antidiuretického hormonu	32
3 Dynamické testy	34
3.1 Dexametazonový supresní test.....	34
3.2 TRH stimulační test.....	36
3.3 Test inzulínové tolerance	37
3.4 Glukagonový test	38
3.5 GHRH-argininový test	39
3.6 Test na macimorelin	39
3.7 GH supresní test	40

3.8	Test deprivace vody	41
4	Imunoanalytické metody.....	44
4.1	ELISA	44
4.1.1	Přímá ELISA.....	45
4.1.2	Nepřímá ELISA	46
4.1.3	Sendvičová ELISA	46
4.1.4	Konkurenční ELISA	46
4.2	Radioimunoanalýza.....	47
4.2.1	Konkurenční RIA.....	47
4.2.2	Imunoradiometrická analýza.....	48
4.3	Chemiluminiscenšní imunoanalýza	49
5	Faktory ovlivňující hladinu hormonů	50
	ZÁVĚR	53
	POUŽITÁ LITERATURA	55

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1- Anatomie mozku ^{upraveno z [6]}	13
Obrázek 2- Jednoduchá a složitá zpětná vazba pro TSH ^{upraveno z [9]}	15
Obrázek 3- Pozitivní zpětná vazba pro FSH a LH ^{převzato z [12]}	16
Obrázek 4- Srovnání koncentrace GH u pacienta s akromegalií a zdravého pacienta ^{upraveno z [26]}	23
Obrázek 5- Srovnání hladiny TSH u hypertyreózy a hypotyreózy s normálním stavem ^{upraveno z [57]}	37
Obrázek 6- Hladina pacienta s GH deficitem a koncentrace GH zdravého jedince po podání inulinu ^{upraveno z [61]}	38
Obrázek 7- Srovnání glukózy a hladiny GH zdravého jedince a pacienta s akromegalií po podání glukózy ^{upraveno z [66]}	41
Obrázek 8- Srovnání výsledných křivek po testu deprivace vody ^{upraveno z [67]}	43
Obrázek 9- A) přímá ELISA B) nepřímá ELISA C) sendvičová ELISA D) konkurenční ELISA ^{upraveno z [71]}	45
Obrázek 10- Postup při RIA: A) antigenem se naváže na protilátku B) přidání značeného antigenu C) přidání sekundární protilátky D) vytvoří se peleta ^{upraveno z [71]}	48
Obrázek 11- Koncentrace GH s věkem klesá ^{upraveno z [75]}	50
Obrázek 12- Cyrkadiální změny ACTH během dne ^{upraveno z [78]}	51
Obrázek 13- Cyklické změny při ovulaci ^{upraveno z [77]}	51
Obrázek 14- Koncentrace oxytocinu u deprese a u normálního stavu ^{upraveno z [79]}	52

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ACTH – adrenokortikotropní hormon

ADH – antidiuretický hormon

AQP2 – aquaporin-2

AVP – arginin-vazopresin

BIPSS – bilaterální katetrizace sinus petrosi inferiores

CD – cushingova choroba

CDI – centrální diabetes insipidius

CS – cushingův syndrom

DI – diabetes insipidius

DST – dexametazon

ELISA – Enzyme-linked immunosorbent assay

FSH – folikulostimulační hormon

GH – růstový hormon

IGF-1 – inzulínu podobný růstový faktor 1

IGFBP3 – IGF vázající protein 3

ITT – inzulínový toleranční test

LH – luteinizační hormon

RIA – radioimunoanalýza

SIADH – syndrom neadekvátní sekrece antidiuretického hormonu

STH – somatotropin

TRH – tyreoliberin

TSH – tyreotropin

T3 – trijodtyronin

T4 – tyroxin

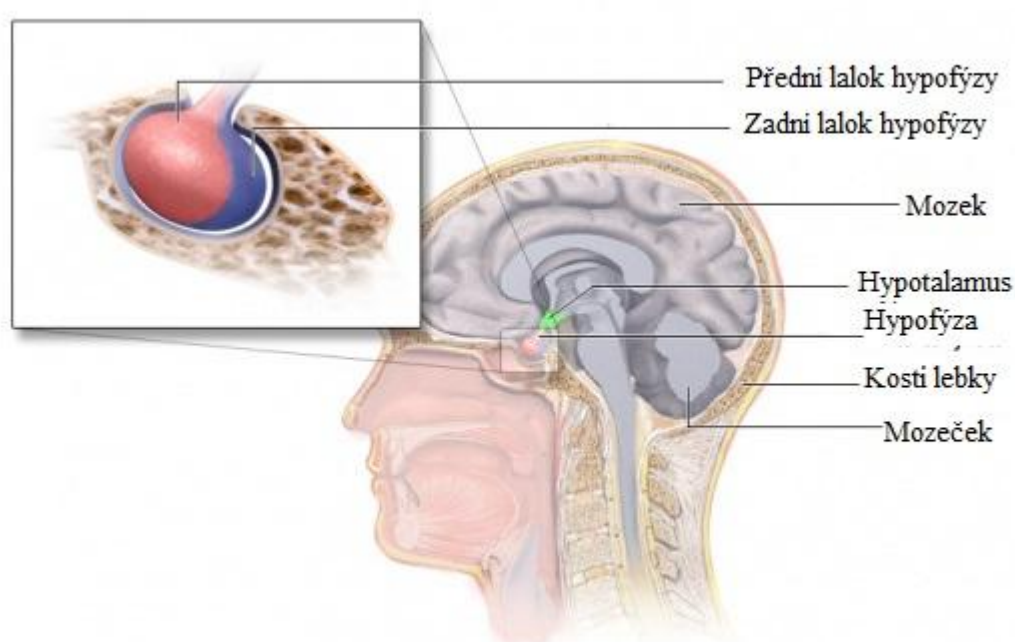
ÚVOD

Hypofýza se řadí mezi žlázy s vnitřní sekrecí a je důležitým orgánem v endokrinologickém systému. Hypofýza vylučuje velké množství hormonů, které kolují v krevním oběhu a ovlivňují náš systém, její rolí je také udržet vnitřní prostředí organismu. Svou činností působí na další endokrinní žlázy a ovlivňuje jejich produkci hormonů. Sama ale podléhá vlivům z hypotalamu, konkrétně její činnost usměrňují hormony zvané statiny a liberiny. Také je jí možné ovlivnit pomocí zpětnovazebné smyčky, kdy reaguje na hladiny hormonů jiných žláz v krvi. Informace jsou vedeny z periferní žlázy do nadřazeného centra CNS, poté nervové dráhy vedou informaci do hypotalamu a ten produkcí hypotalamických hormonů ovlivňuje funkci hypofýzy. Onemocnění hypofýzy vznikají nejčastěji jako důsledek nádorů. Většina nádorů je nezhoubná, ale vyskytují se i případy, kdy vylučují nadměrné množství hypofyzárních hormonů, nebo může výskyt nádoru naopak snížit sekreci hormonů.

Cílem této bakalářské práce je popsat příčiny vzniku onemocnění, jejich průběh a příznaky. Mezi onemocnění zmíněná v práci patří například gigantismus a akromegalie, nedostatek růstového hormonu, cushingův syndrom a hyperprolaktinémie. Do bakalářské práce je také zahrnuta diagnostika těchto onemocnění pomocí funkčních testů a popisují i imunoanalytické metody, které jsou využívány při měření koncentrace hormonů. V závěru této práce jsou zmíněny faktory, které ovlivňují koncentraci hormonů a je důležité na ně myslet, aby nedošlo ke špatné interpretaci výsledků. Zde je uveden například věk, cyklické změny, transport a skladování.

1 Hypofýza

Hypofýza (podvěsek mozkový, lat. *glandula pituitaria*) je důležitá žláza v lidském těle. Hypofýza řídí různé tělesné funkce a má také důležitou úlohu při vyrovnávání hladin hormonů v těle. Jde vlastně o výčnělek ve spodní části mozku, který má velikost hrášku nebo třešně. Žláza má oválný tvar a váží kolem 500 mg. Je uložena v tureckém sedle kosti klínové. Obrázek 1 ukazuje přesné umístění hypofýzy. Anatomicky a funkčně je hypofýza rozdělená na dva laloky – přední lalok neboli adenohypofýza a zadní lalok zvaný také jako neurohypofýza.^[1, 2]



Obrázek 1- Anatomie mozku ^{upraveno z [6]}

1.1 Osa HYPOTALAMUS-HYPOFÝZA

Adenohypofýza není anatomicky spojena s hypothalamem, ale funkčně ano. Její činnost ovlivňují hormony z hypothalamu. V hypothalamu nervové buňky syntetizují neurohormony a ty jsou poté vedeny prostřednictvím systému hypofyzárních portálních cév do předního laloku hypofýzy, kde stimulují nebo inhibují produkci a sekreci hormonů endokrinních buněk adenohypofýzy. Hormony hypothalamu, které stimulují hypofýzu ke zvýšené tvorbě a sekreci hormonů se označují jako liberiny. Statiny jsou naopak hormony, které inhibují vylučování a tvorbu hypofyzárních hormonů.^[3]

Mezi liberiny patří:

Thyreoliberin, který je produkován neurony v hypotalamu, poté se uvolní a jeho hlavní úkol je stimulace thyreotropních buněk k vylučování thyreotropního hormonu. Další liberin je GnRH, ten působí na receptory gonadotropních buněk přední hypofýzy. Tyto gonadotropní buňky syntetizují folikulostimulační a luteinizační hormon, které jsou uvolňovány do periferního oběhu. Kortikoliberin podporuje syntézu a vylučování adrenokortikotropního hormonu z hypofýzy. GHRH z hypotalamu podporuje produkci a uvolňování somatotropinu, má za cíl zvýšit hladinu somatotropinu v krvi. ^[4, 5]

Mezi statiny řadíme:

Somatostatin, který inhibuje uvolňování GHRH z hypofýzy, také inhibuje reakci uvolnění somatotropinu na stimul GHRH a zvyšuje hypoglykémii. Dalším hormonem je dopamin, který se vylučuje do krve a působí na laktotrofy a výsledkem je snížení hladiny prolaktinu v těle. ^[6]

Neurohypofýza je anatomicky spojená s hypotalamem. Neurohypofýza je tvořena z axonů a nervových zakončení, které vznikají ze skupin neuronů nacházejících se v hypotalamu. Nejvýraznější jsou ty, které pochází z magnocelulárních neuronů supraoptických a paraventriculárních jader. Dohromady tvoří hypotalamo-hypofyzární trakt, který končí poblíž sinusoidů zadního laloku. Neurohypofýza netvoří hormony, ale pouze skládá hormony, které jsou tvořeny v hypotalamu. ^[7]

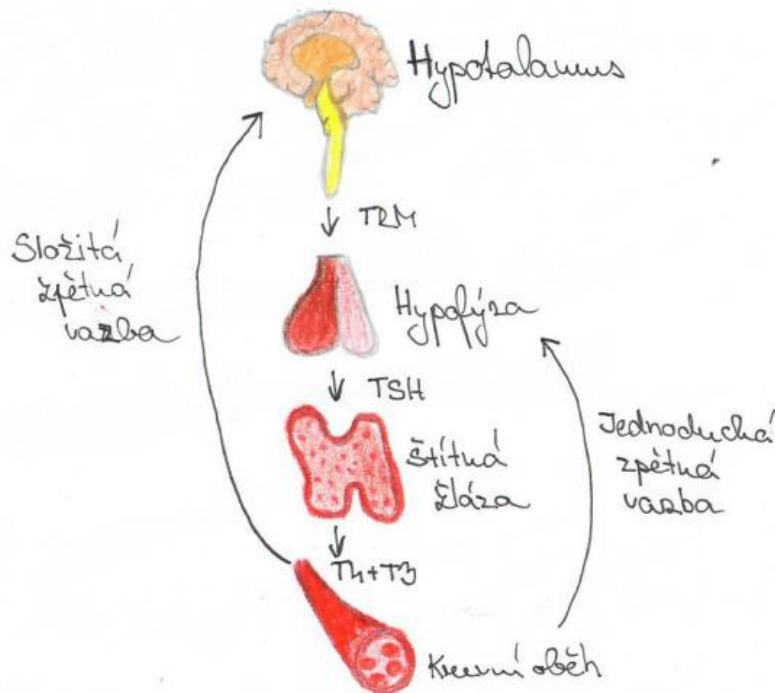
1.2 Regulace činnosti hypofýzy

Produkce a sekrece hormonů je řízená několika mechanismy zpětné vazby a ovlivňuje ji řada vlivů.

Negativní jednoduchá smyčka funguje tak, že zvýšená nebo snížená hladina hormonů periferní žlázy působí na hypofýzu k podpoře produkce nebo naopak ke snížení hormonů hypofýzy. ^[7]

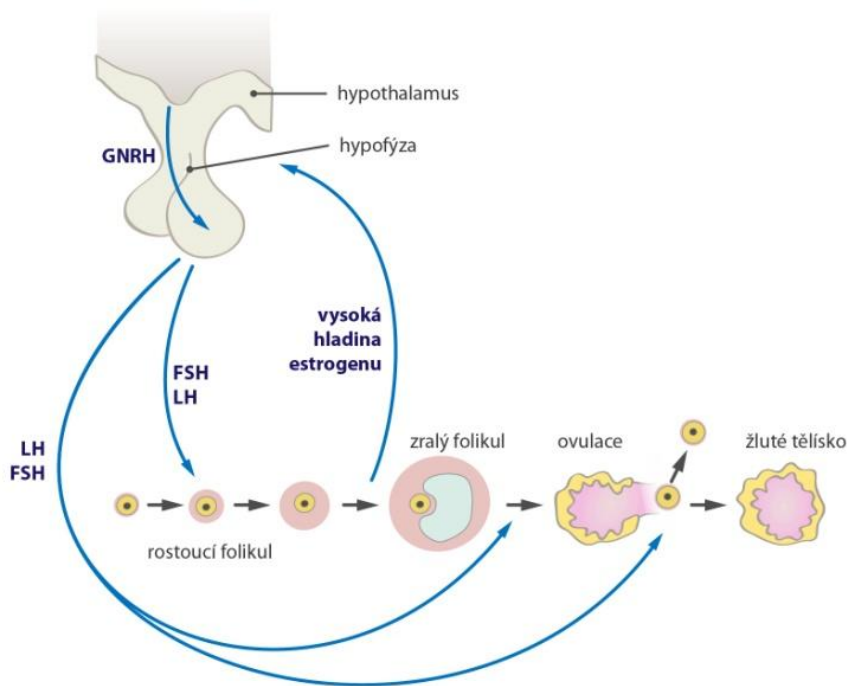
Negativní složená zpětná vazba funguje na principu monitorování koncentrace hormonů periferní žlázy. Pokud je hladina hormonů snížena, informace jsou vedeny do hypotalamu, neurony zvýší sekreci liberinů, které poté ovlivňují hypofýzu ke zvýšení jejich hormonů a ty poté působí na cílovou periferní žlázu, aby zvýšila produkci hormonů. Při zvýšené koncentraci zase hypotalamus sníží produkci liberinů, může také vyplavovat statiny, které zase ovlivňují hypofýzu, a ta ovlivňuje jinou žlázu. Například snížená

hladina T3 a T4 hormonu v krvi dává informace do hypotalamu, kde neurony zvýší vylučování thyreoliberinu. TRH poté krevním oběhem putuje do hypofýzy, kde působí na thyreotrofy a stimuluje je k vylučování thyreotropního hormonů. Thyreotropní hormon stimuluje folikulární buňky k sekreci T3 a T4. Obrázek 2 ukazuje jak jednoduchou, tak složitou zpětnou vazbu osy hypotalamus-hypofýza-štítná žláza. [8]



Obrázek 2- Jednoduchá a složitá zpětná vazba pro TSH ^{upraveno z [9]}

Skoro všechny hormony vytváří smyčku negativní zpětné vazby, mezi výjimky patří hormon oxytocin z neurohypofýzy. Ten se uvolňuje při porodu a jeho uvolňování vede k činnostem, které ve výsledku ještě více stimuluji sekreci oxytocinu. Nebo v případě hormonu prolaktinu sání mléka vede k zvýšené syntéze prolaktinu. Čím více je mléka odebráno, tím více se hormon tvoří. Pozitivní zpětná vazba je taky při ovulaci, kdy FSH působí na zrání folikulů a začne se produkovat estrogen. Estrogen je produkován folikuly. Vysoká koncentrace estrogenu působí na hypotalamus, začne se vyplavovat GnRH, který působí na buňky hypofýzy, a nastane zvýšení produkce a sekrece FSH. Tahle zpětná vazba působí do té doby, než je překročena kritická hladina FSH, potom dochází k prasknutí folikulu a uvolnění oocyty. Obrázek 3 ukazuje popsany děj. [10, 11]



Obrázek 3- Pozitivní zpětná vazba pro FSH a LH převzato z [12]

1.3 Adenohypofýza

Adenohypofýza tvoří asi dvě třetiny celkové hmotnosti hypofýzy. Přední lalok hypofýzy se skládá ze souboru endokrinních buněk. Zpočátku byly klasifikovány tři typy buněk pomocí barvení hemotoxinem a eosinem. Jednalo se o chromofobní buňky, acidofily a bazofily. Nejnovější imunohistochemické techniky dovolují rozdělení buněk podle jejich specifických sekrečních produktů. Přibližně 50% sekrečních buněk představují somatotypy, které vytváří hormon somatotropin. 10-25% adeno-hypofyzárních sekrečních buněk tvoří laktotropy, ty syntetizují prolaktin. Asi 15-20% kortikotropy (produkují ACTH), 10–15% gonadotropní buňky (LH a FSH) a 3-5% thyrotropní buňky (TSH). Vyskytují se i takové buňky, většinou se jedná o chromofobní, které se neobarví žádnou z protilátek proti hormonům adenohypofýzy. Odhaduje se, že tyto buňky obsahují sekreční granula. [7]

1.3.1 Funkce hormonů adenohypofýzy

Adenohypofýza produkuje dva druhy hormonů:

- Hormony, které řídí produkci hormonů jiných žláz. Do téhle skupiny řadíme tyreotropní hormon, adrenokortikotropní hormon, folikulostimulační hormon a luteinizační hormon.^[7]
- Hormony, které mají přímý účinek na tělo. Zde řadíme růstový hormon a prolaktin.^[7]

Tyreotropní hormon (TSH) se také může označovat jako tyreotropin. Tyreotropin je peptidový hormon, který se skládá ze dvou řetězců – alfa řetězce a beta řetězce. Jeho struktura je podobná jiným glykoproteinovým hormonům vytvářeným přední hypofýzou, a to LH a FSH hormonu. Tyto hormony mají stejnou alfa podjednotku jako TSH, ale různé beta řetězce, které dávají hormonům biologickou specifitu. Cílovým orgánem, na který hormon působí, je štítná žláza. Podle potřeby tyreotropin stimuluje folikulární buňky ke zvýšení nebo snížení sekrece tyroxinu a trijodtyroninu. Tyto hormony podporují zrání kostí a centrálního nervového systému, zvyšují bazální metabolismus a produkci tepla. Tento hormon stimuluje sekreci hormonů štítné žlázy zvýšením absorpce jodidů, syntézou tyreoglobulinu a aktivitou tyroperoxidázy. Tyreotropní hormon také zvyšuje průtok krve do štítné žlázy, stimuluje hypertrofii a hyperplazii folikulárních buněk, v závěru se to všechno projeví růstovým účinkem na štítnou žlázu.^[8]

Adrenokortikotropní hormon (ACTH) je polypeptidový tropní hormon, který je produkován z buněk adenohipofýzy. ACTH vzniká štěpením prekurzorového hormonu pro-opiomelanokortinu a je složen z 39 aminokyselin. Z adenohipofýzy se hormon uvolní a je veden krevním řečištěm až k cílovému orgánu, což je kůra nadledvin. Tam reguluje tvorbu a sekreci glukokortikoidů ze zona fasciculata a androgenů ze zona reticularis.^[13, 14]

Folikulostimulační hormon (FSH) je glykoproteinový dimer s alfa a beta podjednotkami. Má vliv na sexuální vývoj a reprodukci u mužů i žen. FSH působí na vaječníky a varlata. U žen stimuluje granulózní buňky k syntéze aromatázy. Aromatáza poté katalyzuje převod androgenů na estradiol. Důležitou roli hraje během menstruačního cyklu, konkrétně ve folikulární fázi, kdy stimuluje růst a zrání ovariálních folikulů. U mužů vyvolává a udržuje spermatogenezi. Folikulostimulační hormon spolu s testosteronem má významnou roli v udržení normálního počtu, kvality a funkce spermií.^[15, 16]

Luteinizační hormon (LH) je glykoproteinový hormon, produkován společně s LH gonadotropinovými buňkami. Ovlivňuje produkci hormonů pohlavními žlázami. U mužů působí na Leydigovy buňky varlat a stimuluje je k uvolnění hormonu testosteronu. U žen spouští ovulaci a podporuje zrání žlutého tělíska, je zodpovědný za sekreci progesteronu.^[16, 17]

Růstový hormon (GH), nazývaný také jako somatotropin (STH). Jedná se o polypeptid, který se skládá ze 191 aminokyselin. Název tohoto hormonu už napovídá, že je zodpovědný za regulaci růstu během období dospívání. Ale také je významný pro regulaci mnoha jiných bazálních metabolických funkcí těla a funguje jako reaktant v akutní fázi stresu. Jeho hladina je striktně regulována pomocí několika složitých mechanismů zpětné vazby, které reagují na stres, výživu, cvičení, spánek a na samotnou koncentraci růstového hormonu v těle. Somatotropin působí přímou akci a nepřímou akci. Přímým účinkem STH je jeho působení na vazbu na cílové buňky a stimulaci reakce. Nepřímý účinek nastává prostřednictvím IGF-1, který se vylučuje primárně z hepatocytů jako odpověď na zvýšenou vazbu somatotropinu na povrchové receptory. Jeho funkcí je podpora růstu skoro ve všech tkáních a orgánech v lidském těle. Nejvýznamnější je ale jeho indukce růstu chrupavek a kostí. Zvyšuje vstřebávání aminokyselin z krve, zvyšuje buněčnou proliferaci, a naopak inhibuje apoptózu, tím prodlouží životnost stávající buňky. STH má také metabolické účinky, a to prostřednictvím zvýšené produkce IGF-1, který dále působí na periferní buňky. Dále potlačuje inzulin a jeho schopnost stimulovat absorpci glukózy ve tkáních. STH stimuluje játra k rozložení glykogenu na glukózu, glukóza je poté uvolněná do krve. Také stimuluje lipolýzu, rozkládá se uložený tuk a ten je poté uvolněn do krevního řečiště. Mnoho tkání následně používá jako zdroj energie mastnou kyselinu, to vede ke zvýšené hladině glukózy v krvi.^[7, 14]

Prolaktin je polypeptidový hormon, složený ze 199 aminokyselin, vzniká proteolytickým odštěpením signálního peptidu z prohormonu pre-prolaktin a dále je ještě potranslačně modifikován. Je zodpovědný především za vývoj mléčné žlázy a produkci mléka. Prolaktin podporuje růst mléčných alveol v mléčných žlázách prsní tkáně, kde nastává produkce mléka. Prolaktin reaguje na zvýšený progesteron v období těhotenství tím, že stimuluje alveolární buňky k syntéze mléčných složek, jako je laktóza, kasein a také lipidy. Po porodu progesteron klesá, hladina prolaktinu také není trvale zvýšená, ale vzrůstá až po stimulaci bradavek, to nám dává kontrolu

nad produkcí mléka. Abnormální elevace (tj. neobvyklé vylučování mléka) u mužů a netěhotných žen značí patologický proces. [2, 7]

1.4 Neurohypofýza

Neurohypofýza neobsahuje na rozdíl od adenohypofýzy epiteliální buňky. Místo toho zadní lalok hypofýzy je složen převážně ze zapletených nervových vláken, které pocházejí z hypotalamu. Tyto nervy přenáší dva hormony tvořící se v hypotalamu. Hormony, konkrétně ADH a oxytocin, jsou v neurohypofýze pouze uloženy a případně podle potřeby jsou uvolněny do krve a vedeny do cílového orgánu.^[7]

1.4.1 Funkce hormonů

Vasopresin se také označuje jako antidiuretický hormon (ADH) nebo arginin-vasopresin (AVP). Jedná se o nonapeptid, který je syntetizován v hypotalamu. Je důležitý při kontrole intracelulární a extracelulární rovnováhy těla, regulaci krevního tlaku, také ovlivňuje homeostazi vody a fungování ledvin. Má vliv na ledviny, které v přítomnosti ADH zvýší reabsorpci vody především ve sběrném kanálku, ale i v distálním tubulu. ADH se váže na receptory a dochází k řadě dějů a v konečném výsledku dojde k otevření vodních kanálků známých také jako akvaporiny. Akvaporiny umožní pasivní průchod vody do buňky pomocí osmotického gradientu, který vytváří NaCl a močovina, a tím vším ve výsledku podporuje reabsorpci vody v ledvinách. Tím lidské tělo dokáže šetřit vodou v období dehydratace, při ztrátách velkého objemu krve. Antidiuretický hormon má také vliv na hladké svalstvo cév, způsobí vazokonstrikci cév a vede ke zvýšení krevního tlaku. Krevní tlak se také zvyšuje s reabsorpcí vody. Oba tyto mechanismy jsou důležité v období, kdy je objem arteriální krve nízký, k udržení perfuze tkáně. Osmoreceptory reagují na změny osmolarity krve a již mírně zvýšení osmolarity vede k sekreci ADH. Baroreceptory zase reagují na objem arteriální krve v levé síni, krční tepně a aortálním oblouku. Tyto informace zaznamenané baroreceptory vede nervus vagus, který stimuluje uvolňování ADH. Ten podporuje reabsorpci vody a způsobí také vazokonstrikci cév.^[18]

Oxytocin je hormon uložený v neurohypofýze, jedná se o oligopeptid složený z 9 aminokyselin. Oxytocin se uvolňuje během porodu, jeho účinkem je stimulace kontrakce v myometriu tím, že receptory spojené s G-proteinem stimulují vzestup vápníku v myofibrilách v děloze. Zde probíhá pozitivní zpětná vazba – oxytocin stimuluje kontrakce dělohy, ty vedou ke zvýšenému uvolňování oxytocinu z neurohypofýzy.

To je vysvětlení zvýšené intenzity i frekvence kontrakcí během porodu, to umožňuje matce provést vaginální porod. Plod tlačí na děložní čípek, z této akce vznikají nervové impulsy, které putují do mozku matky, a aktivuje zadní hypofýzu k vylučování oxytocinu. Oxytocin je poté veden krevním řečištěm do dělohy, aby se kontrakce dále zvětšily. Oxytocin také působí na myoepiteliální buňky prsou během kojení a způsobuje kontrakci alveolárních kanálků. Díky této kontrakci mléko přechází z kanálků do ještě větších dutin, ty poté vylučují mléko. Tady také probíhá pozitivní zpětná vazba, díky které se oxytocin vylučuje do krve. Mechanismus je podobný jako v případě porodu, akorát místo kontrakcí dělohy dochází k vylučování mléka z prsu. U mužů během ejakulace stimuluje kontrakci chámovodu k vylučování spermatu. Oxytocin má i antidiuretické a vazodilatační účinky, zvyšuje mozkový, koronární a renální průtok krve. ^[10]

2 Onemocnění

2.1 Gigantismus a akromegalie

Gigantismus a akromegalie jsou poruchy způsobené hypersekrecí růstového hormonu z přední hypofýzy. Nejběžnější příčinou je přítomnost benigního nádoru nebo adenomu pocházejícího ze somatotropních buněk hypofýzy a vylučujících přebytný GH, méně častou příčinou může být hyperplazie hypofýzy. ^[19, 20]

Gigantismu se vyskytuje pouze v dětství, kdy si kostra udržuje otevřené epifýzové růstové ploténky. Gigantismus hypofýzy je extrémně vzácný – výskyt nádorů hypofýzy u dětí je přibližně 0,1 z jednoho milionu a pouze 1 až 10% dětských nádorů hypofýzy vylučuje GH. Charakteristický klinický projev gigantismu hypofýzy se skládá z neobvykle vysokého vzrůstu s neobvykle rychlou rychlostí růstu. Mohou být přítomny nálezy pubertálního zpoždění, zrakových vad, bolesti hlavy, nadměrné chuti k jídlu, hyperhidrózy (tj. nadměrné pocení) a menstruační nepravidelnosti. Je třeba poznamenat, že vysoký vzrůst není často vnímán negativně, kvůli tomuto dojmu může u pacientů přicházejících k lékařské péči dojít k souvisejícímu zpoždění. Fyzické rysy charakteristické pro akromegalii jsou u adolescentů variabilně přítomné, včetně prognathismu (tj. část čelisti vyčnívá dopředu), hrubých rysů obličeje, velkých rukou a nohou. ^[20, 21]

Přebytek GH vede ke zvýšení inzulinového růstového faktoru-1 (IGF-1), který je syntetizován především v játrech, v menší míře je syntetizován ledvinami, hypofýzou, svaly a gastrointestinálním traktem. IGF-1 má důležitou roli v regulaci buněčného růstu a diferenciaci. Podporuje růst, tedy vede k charakteristické proliferaci kostí, chrupavek a měkkých tkání, a také k zvětšení velikosti dalších orgánů za vzniku klasických známek a příznaků akromegalie. Akromegalie je vzácné onemocnění, postihuje přibližně 50 lidí z milionu s roční incidencí přibližně tři případy na jeden milion jedinců. Pacienti s akromegalií mají charakteristické rysy obličeje, velkou dolní čelist, výrazné čelo, nadměrný růst měkkých a akrálních tkání. K tomu dochází po fúzi růstových destiček, což odlišuje akromegalii od gigantismu, ke kterému dochází před fúzí růstových destiček. 50-70% pacientů trpí intolerancí glukózy a hyperinzulinémií, další metabolické komplikace jsou hypertriglyceridemie, hyperkalcemie a hyperkalciurie. Vysoké hladiny GH a IGF-1 vedou k hyperhidróze, bolesti hlavy, bolesti kloubů, parestézii (tj. mravenčení), sexuální dysfunkci, hypertenzi,

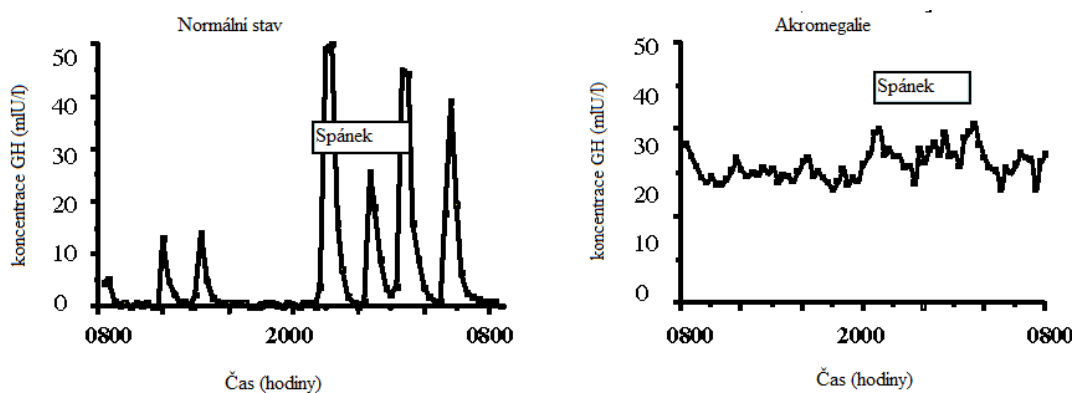
srdečníma gastrointestinálním komplikacím, plicní dysfunkci. To všechno má za následek 30% zkrácení délky života. V časná diagnóza onemocnění je proto zásadní pro prodloužení délky života a kvality života.^[22, 23, 24, 25]

U některých pacientů nemusí být přítomny žádné klinické rysy nebo mohou být projevy na začátku stádií onemocnění mírné a pomalu postupující změny mohou být pro pacienta a jeho rodinu bez povšimnutí. Bylo by ideální včasné rozpoznání fyzických znaků, ale zákeřná povaha těchto onemocnění vede k dlouholetému zpoždění od nástupu nemoci po diagnózu. Následkem je, že v době diagnózy už jsou přítomny výrazné klinické příznaky. Proto vyšetření může nastat až po 4-10 letech onemocnění, jelikož tyto příznaky nebyly dobře rozeznatelné, diagnóza tedy spočívá na pečlivé anamnéze.^[19]

Biochemické hodnocení pacienta se provádí za účelem nejen definitivně stanovit nebo vyloučit přítomnost přebytku růstového hormonu, ale také k ověření a kontrole správnosti léčby. Jednorázové stanovení hladiny STH nemá význam, ale pokud se setkáme s velmi zvýšenými hladinami, které se za normálních okolností obvykle nevyskytují, ale jsou teď přítomny, mělo by to vést k podezření na akromegálii, u dětí pak k podezření na gigantismus. Obvykle se odebírá IGF-1, jehož hladina odpovídá koncentraci STH. Na rozdíl od STH nevykazuje IGF-1 denní výkyvy, jeho hladina však závisí na věku a pohlaví. Maximální hladina je ve věku kolem 15 let, tedy v období růstu v pubertě, naopak koncentrace IGF-1 klesá s věkem, nejnižší je ve stáří. Hladinu IGF-1 můžeme stanovovat kdykoli během dne, aniž by pacient musel hladovět. Proto je měření hladiny IGF-1 doporučeno jako počáteční test u pacientů s klinickými příznaky akromegalie, pokud je hladina IGF-1 pod referenční hodnotu věku a pohlaví, pak mohou účinně vyloučit diagnózu akromegalie. Měly by být použity vysoce citlivé testy pro detekci hladiny hormonu GH menší než 1,0 ng/ml. Dříve se z imunotestů využívala radioimunoanalýza, která měla ale několik omezení. Nakonec byly vyvinuty citlivější testy, jako jsou imunoluminometrické a imunoradiometrické testy, které jsou použity pro přesné měření koncentrace GH a IGF-1 v plazmě u pacienta. Dále se může měřit IGF vázající protein-3 (IGFBP3), jeho hladina má stejný charakter jako u IGF-1. IGF vázající protein-3 opisuje hladinu IGF-1 v průběhu života. Pokles koncentrace s věkem je výrazně menší než u IGF-1. Využívá se poměr IGF-1 / IGFBP3 při nádorových onemocněních, kdy vyšší hladina IGF-1 znamená vyšší riziko nádorové transformace a na druhou stranu zvýšená přítomnost IGFBP3 má spíše ochranné účinky.^[23]

K diagnostice při podezření na nadbytečnou produkci STH se využívá GH supresivní test. Při tomto testu se měří stupeň potlačení GH po podání glukózy perorálně. Normálně dochází k supresi STH pod bazální hodnotu, to je pod 1 ug/l (menší hladina je potom pozorována u diabetiků a při růstovém spurtu u teenagerů). U akromegalie hladina hormonu STH neklesá v průběhu testu. Tento test samotný nestačí pro potvrzení diagnózy, musí být spojen s hodnocením IGF-1 hormonu. Diagnózu můžeme potvrdit po prokázání zvýšené hladiny IGF-1 v kombinaci s výsledkem GH supresivního testu. [20]

Stanovení náhodné hladiny GH postrádá specifitu pro potvrzení nebo vyloučení diagnózy akromegalie. Bazální hladiny GH jsou měřeny ráno po hladovění a jsou obvykle zvýšené u pacientů s akromegalií. Uvolňování GH je pulzující, s 6–11 pulzy sekrece GH během 24 hodin, zatímco 70–80% dne zůstávají hladiny GH pod úrovní detekce. U pacientů s akromegalií jsou bazální hladiny GH v séru kontinuálně zvyšovány. Ačkoli náhodné hladiny GH mohou být u mnoha pacientů vysoké, hladiny GH se často překrývají s rozsahem pulzní sekrece GH u zdravého subjektu, to můžeme vidět na obrázku 4. Některé laboratoře obhajují pět měření za jeden den, abychom získali přesnější měření a odhad stavu hladiny GH, nicméně je to velmi náročné na praxi a zdlouhavé. Samotné měření náhodné hladiny GH proto není pro diagnostiku akromegalie spolehlivé. Hodnoty GH v séru lze použít k hodnocení a monitorování kontroly nemoci po operaci. S vysoce zvýšenými hladinami, např. vyšší než 100 $\mu\text{g/l}$, se však za normálních fyziologických okolností obvykle nesečkáme, a pokud jsou přítomny, mělo by to vést k vysokému podezření na akromegalií. Musíme brát v úvahu, že i u špatně užitelné léčbě při diabetes mellitus nebo při selhání ledvin vlivem stresu, se může zvýšit sérová koncentrace somatotropinu. [23]



Obrázek 4- Srovnání koncentrace GH u pacienta s akromegalií a zdravého pacienta ^{upraveno z [26]}

Uvádím zde i dodatečné testy, které se mohou použít při hodnocení pacienta s podezřením na akromegalii či gigantismus, tyto testy se běžně nevyužívají a samy o sobě nejsou k potvrzení diagnózy. Řadí se zde 24 hodinový profil GH v séru, protože díky stanovení hladiny GH v séru v opakovaných odběrech během noci nebo po dobu 24 hodin můžeme překonat omezení spojené s pulzující povahou sekrece GH. Tohle měření poskytne mnohem více informací o struktuře a množství sekrece GH, ale je nepraktické pro rutinní diagnostické použití. Pacient by musel být přijat do nemocnice, kde by byl pod dohledem a je vhodné ho přijmout dříve, aby se adaptoval na prostředí. Většinou se tohle stanovení využívá při hodnocení výsledku léčby. Dalšími dodatečnými testy jsou měření GH v moči, kdy průměrná koncentrace hormonu v moči odpovídá koncentraci růstového hormonu v séru, hladině IGF-1 a klinické aktivitě akromegalie, ale toto vyšetření málokdy podává další informace, a proto se obvykle dělá pouze pro výzkumné účely. ^[19, 20, 22]

Po biochemické diagnostice akromegalie se doporučuje provést zobrazovací studii k vizualizaci velikosti a vzhledu tumoru, stejně jako parazelárního rozsahu. ^[23]

2.2 Nedostatek růstového hormonu

Nedostatek růstového hormonu můžeme podle věku rozdělit na dětský a dospělý. Deficit růstového hormonu v dětství lze podle příčiny ještě rozdělit na vrozený, získaný nebo idiopatický. Idiopatický GH nedostatek je u dětí nejčastější příčinou. Tento stav se špatně definuje a je spojen s nízkým vzrůstem a nízkou rychlostí růstu pro konkrétní věk dítěte. Nízký vzrůst, který se vyskytuje u 2,5% dětí, je běžným důvodem pro endokrinní vyšetření. Syndrom nedostatku růstového hormonu v dospělosti je většinou získaný, ale také může docházet k deficitu v důsledku nástupu nedostatku v dětství. Nedostatek v důsledku mutace genů souvisí se syntézou GH a receptory GH a vývojovými strukturálními poruchami v mozku. Deficit může být způsoben samotným nádorem v hypofýze a hypotalamu, jejich léčbou chirurgickým zákrokem nebo použitím radioterapie za účelem léčby nádorů. Dále také poranění hlavy nebo subarachnoidální krvácení a infekce, to všechno může vést k získané formě. U mikroadenomu vzácně, především u makroadenomu hypofýzy se vyskytuje alespoň jeden nedostatek hormonu. Záření také indukuje deficit GH. U mladších pacientů je zvýšené riziko deficitu po intrakraniálním záření a dále se zvyšuje riziko vzniku deficitu s dobou, po kterou trvá radiační terapie. Pokud je množství záření nad 40 Gy, je 50% pravděpodobnost, že může vzniknout nedostatek GH. Pacienti se můžou časem zotavit, ostatní zase zhoršit, proto je

nutné koncentraci hormonu sledovat při přijetí pacienta a následně kontrolovat v pravidelných intervalech. Důležité je rozlišit příznaky patologické od fyziologické příčiny poklesu GH, například při stárnutí, tomu se říká „somatopauza“, neboli se zvyšujícím se věkem dochází k přirozenému poklesu koncentrace GH. [27, 28]

Růstový hormon prostřednictvím inzulínového růstového faktoru 1 je podstatný pro podporu růstu kostí v dospívání, ale také působí na metabolismus a činnost různých orgánů, konkrétně kardiovaskulárního, svalového a kosterního systému. Pokud je tedy v dětství zodpovědný za narušení růstu a opožděný vývoj, pak v dospělosti je charakterizován srdečními, svalovými, kostními, metabolickými a psychickými anomáliemi. Mezi klinické příznaky řadíme sníženou energii, depresivní náladu, zvýšenou úzkost, zvýšení tělesného tuku, a to zejména centrální tukové tkáně. Dalšími příznaky jsou snížená svalová hmotnost, snížená hustota kosti, která je spojená se zvýšeným rizikem zlomen, snížení srdeční svalové hmoty s poruchou srdeční funkce, snížená citlivost na inzulín a zvýšená prevalence zhoršené glukózové tolerance, zrychlená aterosogeneze. Dospělí s nedostatkem GH mají abnormality spojené s rozvojem vaskulárního onemocnění, se zvýšenými koncentracemi celkového cholesterolu a LDL cholesterolu. Existuje zvýšená hladina plazminogenu a vyšší hladiny fibrinogenu, což je rizikovým faktorem pro cévní mozkovou příhodu a infarkt myokardu. Tato nepravidelnost může vysvětlit nález většího výskytu ateromatózních plaků v karotidě a femuru cévy u těchto pacientů. [27, 28]

Snížená odpověď GH na různé podněty nebo snížení hladiny růstového faktoru-1, na tom je založena diagnostika deficitu GH. V rámci biochemického vyšetření se provádí tři skupiny testů k vyhodnocení stavu pacienta. Měří se reakce růstového hormonu na provokativní testy, spontánní koncentrace GH v séru a sérová koncentrace IGF-1 nebo IGF vázající protein-3, které jsou regulovány sekrecí GH, ale během dne se mění velmi málo, na rozdíl od GH, a lze je snadno měřit jako screeningový test na nedostatek GH. Může nastat situace, kdy hladiny IGF-1, IGFBP3 jsou v referenčních mezích, přitom pacient má nedostatek GH, v tomto případě by se mělo počkat i na výsledky dynamických testů. Neexistuje jedinečný test, ale test tolerance na inzulín (ITT) je hlavní test stimulace GH, který se doporučuje. Principem stimulačního testu GH je měření hladin GH v krvi po podání léku, který rychle stimuluje GH. Jako výsledná odpověď pacienta se bere nejvyšší hladina GH ve vzorcích. Je-li test kontraindikován například při hyperglykémii, ale je podezření na deficit, měly by být

provedeny dva nebo více jiných provokativních testů, například GHRH-argininový test, Argininový test, Klonidinový test. Testy GHRH v kombinaci s argininem nebo GHS (tj. GHRP-6) jsou stejně spolehlivé jako ITT. Pozor si musíme dát na účinky nadváhy a obezity a jejich interpretaci odpovědi GH na provokativní testy, aby se zabránilo falešně pozitivním a falešně negativním diagnózám. Nedostatek růstového hormonu lze diagnostikovat i bez testování stimulace GH, pokud se objevují typické rysy nedostatku GH, které jsou ještě spojeny s nízkou hladinou IGF-1 v séru. Opakování stimulačních testů by mělo být u pacientů s deficitem v dětství, pokud není genetická příčina nebo nevratné poškození, u těchto případů to není potřeba. Stimulační testy by se naopak neměly opakovaně provádět u dospělých pacientů s ireversibilním poškozením hypofýzy. Diagnóza deficitu růstového hormonu (GHD) v dětství je náročná, protože neexistuje zlatý standard, proto je třeba u dětí provést dva a více testů na stimulaci GH. ^[29, 30, 31]

2.3 Cushingův syndrom

Cushingův syndrom (CS) označuje patologický hyperkortizolismus, který vzniká vlivem dlouhodobé nadměrné produkce adrenokortikotropního hormonu nebo vlivem nadprodukce kortizolu v nadledvinách ^[32]

Exogenní CS je způsobený farmakologickými dávkami syntetických glukokortikoidů, je to nejčastější forma syndromu a můžeme ji vidět běžně. Zatímco endogenní příčiny CS jsou vzácné a lze je rozdělit na dva druhy – CS závislé na adrenokortikotropním hormonu a CS nezávislé na ACTH. ACTH dependentní Cushingův syndrom vzniká zvýšením produkce ACTH. Přibližně 80% případů ACTH dependentní formy CS je způsobeno adenomem hypofýzy, tyto případy se označují jako Cushingova choroba. Další příčinou mohou být ektopické nádory, neboli CS je způsoben jinými nádory v těle mimo hypofýzu. ACTH independentní forma je vyvolána hypersekrecí kortizolu v kůře nadledvin a jeho příčinou jsou ve 20% nádory nadledvin, dále karcinom a makronodulární hyperplazie. ^[33, 34, 35]

Cushingův syndrom má velké spektrum klinických projevů. Nejběžnějším projevem je zvýšená viscerální tuková tkáň, dále ztenčená kůže, snadná tvorba modřin a fialové strie větší než 1 cm na šířku, hypertenze, bolest zad, svalová slabost, dyslipidemie. U 70-85% pacientů je také snížena kognitivní schopnost a je přítomna psychiatrická dysfunkce, pacient je depresivní, emočně labilní a podrážděný, vzácně je přítomna akutní psychóza, mánie, úzkost, záchvaty paniky a paranoia. Pacient má sníženou paměť a schopnost učení.

U 50%-80% pacientů s cushingovým syndromem je přítomna snížená hustota kostí, osteoporóza a zlomeniny. U dětí je charakteristickým znakem cushingova syndromu retardace růstu spolu s přírůstkem hmotnosti. Některé rysy syndromu jsou hodně specifické, ale jiné příznaky jako je obezita, deprese, cukrovka, hypertenze nebo menstruační nepravidelnost jsou v populaci běžné. [33, 36, 37]

Byla provedena studie, kde bylo 86 obézních subjektů, a u 5 pacientů (5,7%) byl diagnostikován cushingův syndrom. Proto je CS někdy velmi obtížné diagnostikovat, zde je uvedeno pár případů, kdy bychom měli zvažovat, zda pacient nemá CS. [35]

O CS můžeme uvažovat, pokud má pacient příznaky, které nelze vysvětlit jiným způsobem. Například u 50letého muže je nárůst hmotnosti 7 kg. U muže byla ještě zjištěna hypertenze a prediabetes v souvislosti s omezeným cvičením. Má stresující zaměstnání a v rodinné anamnéze je hypertenze a cukrovka. Lékař by to mohl považovat za esenciální hypertenzi a rozvoj familiárního diabetu. Pokud pacient měl nedávno plicní embolii nebo měl více zlomenin obratlů, tak by se tyto nevysvětlené a neočekávané rysy měly prověřit a vyvolat větší diferenciální diagnózu. Cushingův syndrom se také bere v úvahu, pokud se u mladého pacienta objeví příznaky syndromu ve věku, než by se měly objevovat. To platí hlavně u mladých lidí, kteří mají osteoporózu, zlomeniny nebo hypertenzi. Na CS je také třeba myslet, pokud pacient trpí závažnými příznaky a příznaky syndromu, které se vyskytnou souběžně, a to během několika následujících měsíců, nebo pokud pacient získává další a další příznaky po určitou dobu. Jako příklad lze uvést Cushingův syndrom u muže, který má během tří měsíců anamnézu – nárůst hmotnosti 15 kg, dále má problémy s poznáváním, těžkou hypokalemii a svalovou slabostí. Na druhou stranu, pomalý přírůstek hmotnosti, nespavost, změny nálady, cukrovka a hypertenze také může naznačit diagnózu. Důležité je tedy znát anamnézu pacienta, aby se mohlo vyloučit exogenní užívání glukokortikoidů, u těchto případů rysy syndromu závisí na účinnosti přípravku, dávce, způsobu a délce podávání glukokortikoidů. [38]

Biologické testy jsou založené na zvýšené sekreci kortizolu, ztrátě cirkadiálního rytmu kortizolu a ztrátě zpětné vazby osy hypotalamus-hypofýza-nadledvina. Měly by se použít následující testy – 24hodinový volný kortizol v moči, kortizol v séru (případně ve slinách) v noci. Koncentrace kortizolu v moči nad 1 000 nmol/24 hod již potvrzuje CS. Hladina kortizolu pod 50 nmol/l v noci zase umožňuje vyloučit CS. Jelikož se kortizol vyplavuje ve stresových situacích, bylo by ideální provést vyšetření, když pacient

je v klidu a adaptuje se na prostředí v nemocnici. Poslední test, který se využívá je test potlačení dexametazonu v nízké dávce. ^[36,38]

Po potvrzení diagnózy cushingova syndromu je další krok určit příčinu a identifikovat o jaký typ syndromu se jedná, k tomu slouží další laboratorní testy. Provádí se ještě jednou dexametazonový test, ale používaná dávka dexametazonu je vyšší a měří se také plazmatická koncentrace ACTH ráno. Na první pohled se může zdát, že by pacient měl při dependentní ACTH CS mít zvýšenou hladinu, to je pravda jenom u některých pacientů, kdy jejich hladina je zvýšená nad 20 pg/ml. Naopak často bývají hodnoty v referenčním rozmezí, v tomhle případě opakujeme stanovení ACTH nebo se může provádět CRH test, který provádíme v rámci BIPSS, kdy určujeme, zda se jedná o nádor hypofýzy či ektopický nádor. Při nízké až nedetekovatelné hodnotě pod 10 pg/ml se jedná o onemocnění nadledvin. ^[38]

2.4 Hyperprolaktinémie

Jako prolaktinomy se označují ty nádory, které vylučují prolaktin. Patří mezi nejčastější sekreční nádory hypofýzy a tvoří až 40% z celkových adenomů hypofýzy. ^[39]

Prolaktinomy můžeme podle velikosti rozdělit na mikroprolaktinom (menší než 10 mm), makroprolaktinom (větší než 10 mm) nebo obří prolaktinom (větší než 4 cm). Také můžeme pozorovat smíšené nádory, které vylučují růstový hormon a prolaktin, adrenokortikotropní hormon a prolaktin nebo hormon stimulující štítnou žlázu a prolaktin. ^[40]

V důsledku hypersekrece prolaktinu nebo kvůli samotnému nádoru se u prolaktinomu vyskytuje široká škála znaků a příznaků. Hyperprolaktinémie může být způsobena i z jiných důvodů, nejběžnějším důvodem jsou léky, těhotenství, hypothyreóza nebo jiné nádory hypofýzy, to všechno má za následek zvýšenou koncentraci prolaktinu v séru. ^[39]

Hladiny prolaktinu jsou obvykle přímo úměrné velikosti nádoru:

- pokud je nádor menší než 1 cm, tak koncentrace prolaktinu je menší než 200 ng / ml
- 200 ng / ml až 1 000 ng / ml odpovídá velikosti nádoru 1 cm až 2 cm
- a u většího nádoru než 2 cm v průměru je to více než 1 000 ng / ml. ^[40]

Mezi obecné známky nádoru hypofýzy patří bolest hlavy, defekty vidění jako je rozmazané vidění, snížená zraková ostrost a může to vést až ke ztrátě zraku. Další příznaky jsou paralýza kraniálních nervů a různé stupně hypopituitarismu. ^[40]

Mezi klinické případy hyperprolaktinémie u žen patří snížené libido a dyspareunie (tj. bolest při pohlavním styku) a osteoporóza v důsledku nedostatku estrogenu. Galaktorea a (tj. tvorba a sekrece mléka mimo období těhotenství a kojení) je také přítomna u hyperprolaktinémie. Ale přibližně 50 % žen s galaktorea má normální prolaktin, proto tenhle příznak není určující. U žen, pokud mají prolaktin vyšší než 180ng/l, se vyskytují abnormality v menstruačním cyklu od oligomenorey (tj. delší intervaly mezi menstruací) po amenoreu (tj. vymizení menstruace). Tyto změny menstruačního cyklu vedou často až k problémům s plodností a sterilitě. U mírné hyperprolaktémie se většinou poruchy menstruace neobjevují. U žen je většina prolaktinomů mikroadenomů, zatímco muži mají častěji makroadenom. Dochází k snížení gonadotropinu u mužů, a to vede k sekundárnímu hypogonadismu (tj. porucha funkce varlat) s následným nedostatkem testosteronu. Hypogonadismus se u mužů projevuje zhoršením libida, erektilní dysfunkcí, sníženým objemem ejakulátu, sníženou kvalitou a celkovým počtem pohyblivých spermií, sníženou kostní hmotou, ale galaktorea je vzácná. ^[39, 40, 41]

Biochemické vyšetření začíná testem bazální koncentrace prolaktinu v séru. Pokud je koncentrace vysoká (nad 250 µg/l), pokračuje se v získání hodnot dalších hormonů včetně TSH, kortizolu, ACTH, IGF-1, LH, FSH. Také by měl být udělán těhotenský test, jelikož hodnota prolaktinu v těhotenství se zvyšuje zhruba desetkrát. Při měření prolaktinu může nastat jev zvaný „Hook effect“, který je popsán v kapitole imunologická vyšetření. V důsledku toho je koncentrace prolaktinu falešně nízká, pomůže sériové ředění vzorku séra a nové měření hladin prolaktinu. Může nastat i situace, kdy je hladina prolaktinu falešně zvýšená kvůli zvýšenému množství makroprolaktinu, vzniká tzv. makroprolaktinémie. Běžně v krvi cirkuluje prolaktin v podobě monomeru. Makroprolaktin je komplex antigen-protilátka, monomerní prolaktin je navázaný na IgG, jde o komplex s omezenou biologickou aktivitou in vivo, ale s prodlouženým biologickým poločasem ve srovnání s monomerním prolaktinem. Pokud tyto velké varianty cirkulují ve velkém množství, je tento stav označován jako makroprolaktinémie, kterou běžně používané imunitní testy identifikují jako hyperprolaktinémii. V tomhle případě by se měl vysrážet makroprolaktin pomocí polyethylenglykolu, v některých laboratořích je tohle už běžná práce, jiné to dělají až na vyžádání. ^[42]

2.5 Diabetes insipidus

Diabetes insipidus (DI) je porucha homeostázy vody, která je charakterizována vylučováním velkého množství hypotonické moči. Moč DI byla popsána jako insipidní (tj. bez chuti), hypotonická a zředěná. ^[43]

DI lze rozdělit do čtyř kategorií:

- centrální, kvůli nedostatečné produkci a sekreci antidiuretického hormonu
- gestační DI v důsledku degradace ADH enzymem vyrobeným v placentě
- primární polydipsie v důsledku potlačení sekrece ADH nadměrným příjmem tekutin
- nefrogenní DI kvůli rezistenci na působení AVP na jeho receptory v ledvinách ^[43]

Důležitým hormonem diabetes insipidus je hormon zadní hypofýzy ADH, který je jedním z hlavních faktorů ovlivňujících homeostázu vody v těle. Antidiuretický hormon působí na svůj cílový orgán – ledviny, aby zvýšil osmolalitu moči. Osmoregulace a baroregulace jsou dva hlavní mechanismy negativní zpětné vazby, které řídí sekreci ADH. Osmoreceptory hypotalamu detekují již malé změny osmolality krevní plazmy, baroreceptory reagují na snížený objem krve. Hypotalamus reaguje na změny baroreceptoru a osmoreceptorů buď potlačením, nebo zvýšením syntézy ADH a uvolněním ze zadní hypofýzy. Jakmile je stimulována změna osmolality plazmy nebo stimulace baroreceptorů, je ADH uvolňován do krevního řečiště a putuje do sběrného kanálku ledvin, kde se naváže na receptory aquaporinu-2 (AQP2) v bazolaterální membráně sběrného kanálku. Tato vazba způsobí, že se kanály aquaporinu-2 přesunou z cytoplazmy do apikální membrány buňky. Bez tohoto zavedení AQP2 by renální sběrný kanál zůstal v podstatě nepropustný pro vodu. Účelem AQP2 je dostat vodu zpět do krve. V případě DI není voda schopna volně se pohybovat z lumenu nefronu do buněk sběrného kanálu osmotickým gradientem, což vede k vylučování zředěné moči. ^[43,44]

Dvě hlavní formy DI jsou centrální a nefrogenní. Nejběžnější typ, centrální diabetes insipidus (CDI), je způsoben nedostatkem produkce a sekrece ADH v důsledku poškození mozkové tkáně. Měla by být také prozkoumána základní příčina hypofýzárního DI, většina je získaná, ale podstatný počet je genetických a téměř polovina je stále idiopatická. Vrozený centrální DI je vzácný, existují případy genetických vad při syntéze ADH. Nejčtenější pozorovanou mutací specifického genu je ztráta genu AVP

lokalizovaného na chromozomu 20p13. Kromě genetické mutace v genu AVP existuje další vzácná autozomálně recesivní porucha, která zahrnuje DI, a to je Wolframův syndrom. Wolframův syndrom je porucha charakterizovaná dětským diabetes mellitus, atrofií zrakového nervu, ztrátou sluchu, diabetes insipidus a neurodegenerací. Nejčastější příčinou získané CDI jsou primární nádory hypotalamu (například. kraniofaryngom, germinom) nebo metastatické nádory. Centrální DI způsobené adenomy nejsou běžné, častěji mohou vznikat po resekci adenomu nebo jiných nádorů hypofýzy. Dále vzniká po traumatickém poranění mozku, méně častou příčinou jsou infekční onemocnění (například meningitida, encefalitida, tuberkulóza), granulomatózní choroby (například histiocytóza X, sarkoidóza).^[45, 46]

V případě nefrogenního diabetes insipidus (NDI) se antidiuretický hormon tvoří dostatečně, ale ledviny na něj nereagují. Ve většině případů se jedná o ztrátu citlivosti receptorů na ADH. Dospělý s NDI mívají získanou abnormalitu, přičemž nejčastějšími příčinami jsou lithiová terapie nebo jiné léky, hyperkalcémie, hypokalémie, polycystóza, obstrukční uropatie, myelom, srpkovitá anemie.^[43]

Fyziologie vodní bilance u člověka je dosažena hlavně třemi vzájemně souvisejícími determinanty. Mezi ně patří žízeň, syntéza a sekrece ADH a správná funkce ledvin. Diabetes insipidus přímo souvisí s uvolňováním ADH, a také s citlivostí na ADH v terminálním distálním spletitým tubulu a sběrném kanálu. Pokud jsou mechanismy ADH narušeny, dochází v těle k široké škále změn, rozvíjí se nerovnováha elektrolytů, dochází ke ztrátě vody a ke změnám osmolality v séru a moči. Ve většině případů, i přes ztrátu velkého množství vody v moči, jedinci s DI neprojevují dehydrataci. To je způsobeno aktivací centra žízně v hypotalamu, které vyvolává silný pocit žízně se zvyšující se osmolalitou plazmy, což má za následek příjem velkého množství vody. Pokud ale nemocný nemá dostatečný přísun tekutin, například může být v bezvědomí, může rychlý výdej velkého objemu moči vést k dehydrataci a může následovat akutní, někdy závažná hypernatrémie. To by potom mohlo potenciálně vést k nitrolebnímu krvácení, otupělosti, křečím nebo kómatu. Diabetes insipidus je život ohrožující v závislosti na věku, například u malých miminek, nebo u jiných okolností, které narušují kompenzační mechanismy. Převážně DI pouze obtěžuje život pacienta, ať už je to polyurie (tj. zvýšená diuréza, nad 2500 ml/24 hodin), nykturie (tj. noční močení), enuréza (tj. pomočování) nebo polydipsie, všechny tyto příznaky člověka omezují v běžném

životě, ale neohrožují ho na životě. Naštěstí lze tyto příznaky eliminovat nebo minimálně snížit vhodnou léčbou. [45, 46, 47]

Pro identifikaci typu diabetes insipidus se používá test deprivace vody. Jakmile je identifikován typ syndromu diabetes insipidus, je třeba vyvinout úsilí k diagnostice základní patologie odpovědné za tento klinický obraz. V případě centrálního DI by měla být získána důkladná klinická anamnéza, a je třeba provést podrobné fyzické vyšetření, aby se vyhodnotily známky a příznaky hormonálních nedostatků (nebo nadměrného množství v případě hyperprolaktinémie) z jiných os hypofýzy. Biochemické hodnocení musí zahrnovat ranní plazmatické měření hormonů hypofýzy (růstový hormon, prolaktin, ACTH, TSH, FSH a LH) a hormonů z jejich cílových orgánů (inzulínový růstový faktor 1, kortizol, volný tyroxin, celkový a volný testosteron, estradiol). [47]

2.6 Syndrom neadekvátní sekrece antidiuretického hormonu

Syndrom neadekvátní sekrece antidiuretického hormonu (SIADH) je porucha rovnováhy sodíku a vody charakterizovaná hypotonickou hyponatrémií a zhoršeným vylučováním vody. Antidiuretický hormon ovlivňuje propustnost vody. Zvýšená sekrece hormonu ADH vede ke zvýšení reabsorpce vody v ledvinách, a tím se zvýší objem cirkulující krve, a také to způsobí pokles osmolality plazmy. U pacientů se SIADH jsou vylučovány vysoké koncentrace ADH, to má za následek snížení vylučování vody do moči, a naopak moč je zadržovaná v těle a je zpětně vstřebávána do krevního řečiště. Dochází k poklesu hladiny sodíku, nadbytek vody v krvi způsobí sekreci natriuretických peptidů, a ty podporují vylučování sodíku do moči a tím se hyponatrémie dále prohlubuje. [48]

Nejčastěji se SIADH vyskytuje sekundárně jako následek jiného chorobného procesu jinde v těle. Poruchy centrálního nervového systému mohou mít za následek zvýšení ADH a tedy vést k SIADH. Mezi tyto poruchy řadíme mrtvice, krvácení, infekce, trauma a duševní choroby. Jako nejčastější nádor, který způsobuje produkci ektopického ADH, je malobuněčný karcinom plic, méně často jsou to potom mimoděložní malobuněčné karcinomy, rakovina hlavy a krku a čichové neuroblastomy, ty také mohou způsobit ektopické uvolňování ADH. Dále potom léky, chirurgické zákroky, plicní onemocnění jako je zápal plic nebo meningitida, infekce. Výskyt syndromu nepřiměřené sekrece ADH hormonu se zvyšuje s věkem, ale v poslední době byl zaznamenán vyšší výskyt SIADH u dětí. Děti a starší dospělí mají hyponatrémii, zvláště když jsou hospitalizováni

pro respirační infekce a infekce CNS. Syndrom neadekvátní sekrece antidiuretického hormonu je také častější u pacientů po operaci kvůli podávání hypotonických tekutin, léků a reakci těla na stres. ^[48, 49]

Klinické projevy jsou způsobeny převážně hyponatrémii a snížené osmolaritě extracelulárních tekutin, voda se přesune do buněk a způsobí mozkový edém. Znamky a příznaky závisí na rychlosti a závažnosti hyponatrémie a stupni mozkového edému. Mezi nejčasnější klinické projevy akutní hyponatrémie patří nevolnost, malátnost, zvýšený krevní tlak, omezení močení, nechutenství a zvracení, které je špatným znamením pro pacienty s akutní hyponatrémií. Při významném a akutnějším poklesu koncentrace sodíku mohou nastat bolesti hlavy, letargie, otupělost a nakonec záchvaty. Pokud koncentrace sodíku v séru klesne pod 115 až 120 mEq / l, může dojít ke kómatu a ke zhoršení regulace dýchání. ^[48, 49]

Chronická hyponatrémie umožňuje, že pacienti zůstávají bez příznaků i přes koncentraci sodíku v séru pod 120 mmol / l. U chronické hyponatrémie se mohou objevit nespécifické příznaky jako je nevolnost, zvracení, poruchy chůze, paměti, kognitivní problémy, únava, závratě, zmatenost a svalové křeče. ^[49]

Diagnostika zahrnuje krevní odběry na měření koncentrace sodíku, která je snižená, také se stanovuje kreatinin, urea, kyselina močová. U pacienta lze zjistit i zvýšenou koncentraci ACTH v séru. Dále se provádí vyšetření moči, pacient s SIADH bude mít snížený objem vyloučené moči a zároveň ve vyloučené moči bude vysoký obsah sodíku. ^[49]

3 Dynamické testy

Dynamické testy se využívají při kontrole správné funkce endokrinních orgánů. Hodnoty dynamického testu společně s naměřenými hodnotami koncentrace hormonů slouží k potvrzení nebo vyvrácení diagnózy onemocnění. Rozlišují se dva typy, a to stimulační či supresivní. Stimulační testy se aplikují při hypofunkci, hlavním účelem je hodnocení rezervní kapacity pro tvorbu a vylučování hormonu. Supresivní test se uplatňuje při podezření na zvýšenou funkci a sekreci orgánu, kontroluje se, zda je v pořádku negativní zpětná vazba. V našem případě se jedná o zjištění hypopituitarismu nebo hyperpituitarismu. ^[50,51,52,53]

Hypopituitarismus je definován jako absolutní nebo částečné selhání sekrece předních anebo zadních hormonů hypofýzy. Klinický obraz hypofyzární nedostatečnosti závisí na rozsahu a závažnosti nedostatků hormonů, délce trvání onemocnění a věku nástupu. Hypopituitarismus v dětství má kromě patofyziologických účinků specifických hormonálních nedostatků i důsledky pro všechny aspekty somatického vývoje. Mimo to se mohou vyskytovat klinické příznaky související s hromadným účinkem příčinné léze nebo specifickými důsledky, které lze připsat hypersekreci prolaktinu, GH, ACTH nebo TSH z jednotlivých typů nádorů. Hypopituitarismus se vytváří v následném pořadí, nejdříve se sekrecí růstového hormonu, potom jsou gonadotropiny, následně TSH a ACTH. Nedostatek prolaktinu se objevuje málo, nedostatek ADH se téměř nikdy nepovažuje za primární rys adenomů hypofýzy, ale je obvyklým projevem nádorů zárodečných buněk, metastáz hypofýzy a granulomatózních poruch. ^[50]

Hyperpituitarismus se označuje jako nadměrné vylučování nebo tvorba jednoho či více hormonů produkovaných hypofýzou. Tady se jedná například o gigantismus, akromegálii nebo cushingův syndrom. Zvýšená produkce TSH je ojedinělá, představují méně než 1% fungujících adenomů hypofýzy, uvádí se míra výskytu 0,15 případů na milion obyvatel ročně. ^[51, 52]

3.1 Dexametazonový supresní test

Dexamethasonový supresní test hodnotí nedostatečné potlačení osy hypotalamus-hypofýza-nadledviny exogenními kortikosteroidy v případě cushingova syndromu. Dexametazon je syntetický kortikosteroid, který má vysokou afinitu ke glukokortikoidovým receptorům a má dlouhý poločas rozpadu (biologický 36 až 54

hodin, plazmatický 4 až 5 hodin). Na rozdíl od ostatních glukokortikoidů se nekříží s měřením kortizolu v plazmě, slinách nebo moči. [54, 55]

Osa hypotalamus-hypofýza-nadledviny je důležitá pro udržení homeostatické funkce těla a stresovou reakci. Kortikotropin syntetizovaný v hypotalamu je transportován do adenohipofýzy, kde stimuluje produkci a sekreci adrenokortikotropního hormonu. Tento hormon je poté transportován do nadledvin a je stimulována sekrece kortizolu. Sérový kortizol vykazuje negativní zpětnou vazbu na hypotalamus i adenohipofýzu, kortizol způsobí inhibici sekrece těchto dvou hormonů z hypotalamu a adenohipofýzy. Tato pozitivní a negativní zpětná vazba je důležitá pro správnou regulaci kortizolu. Při správné funkci orgánů podání kortikosteroidů má vliv na zpětnou vazbu a vedou ke snížení produkce kortikotropinu a adrenokortikotropního hormonu, a tím pádem se sníží i syntéza a vylučování kortizolu. U cushingova syndromu nedochází k supresi. [54,55]

Tento test se vyskytuje ve třech variantách.

A) Nízkodávkový DST

Tahle varianta slouží k vyloučení hyperkortizolismu. Aplikuje se 1 mg dexametazonu per os mezi 23. hodinou a půlnocí, následující den kolem 8. až 9. hodiny se odebere krev pro stanovení kortizolu a ACTH, to je druhý odběr. První odběr krve proběhl při přijetí pacienta ráno před testem. [53, 55]

Další možností testů je dvoudenní test, 0,5 mg DST se aplikuje po šesti hodinách po dobu 48 hodin. To znamená, že každý den se podá 2 mg dexamethasonu a celková dávka během celého vyšetření je 4 mg. [55]

Normální referenční hodnota by se měla pohybovat pod 100 nmol/l, ale v případě endogenní CS formy, ať už je příčina jakákoliv, dochází k selhání suprese. [53,54,55]

B) Vysokodávkový DST

Po potvrzení cushingova syndromu následuje rozlišení na ACTH dependentní CS vs. ACTH independentní. [54]

Ráno se odebere krev kvůli zjištění koncentrace kortizolu a ACTH. Tento test probíhá přes noc, kdy se perorálně podá 8 mg DST večer, a ráno se zase odebere krev na vyšetření. [53,54,55]

Snížení bazální hodnoty sérového kortizolu o více než 50% značí ACTH dependentní CS. [54,55]

C) Dexametazonový – CRH test

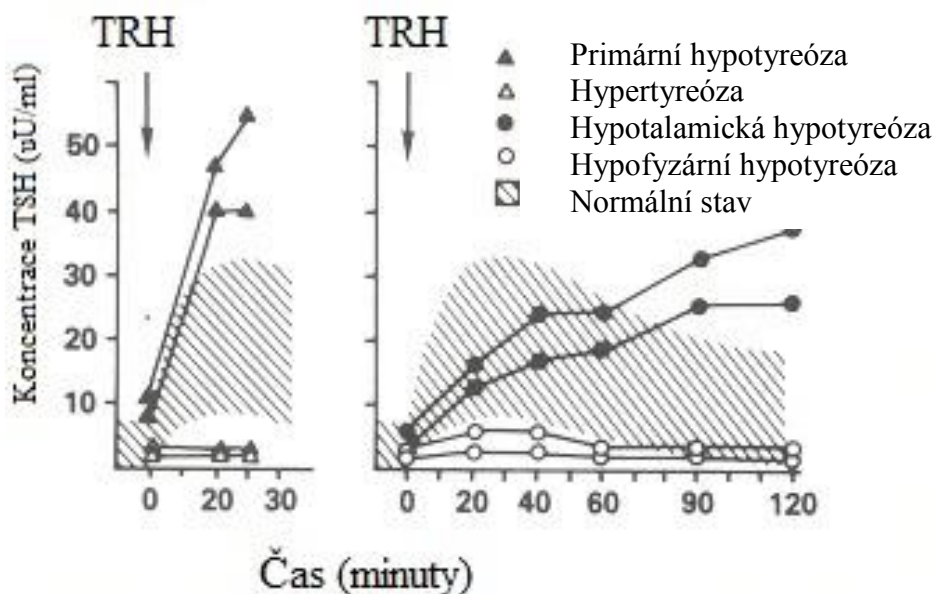
Díky kombinaci těchto dvou testů můžeme rozlišit, zda se jedná o cushingovu chorobu nebo pseudo-cushingův nádor. Kombinuje se nízkodávkový supresivní dvoudenní test a CRH test. Nejdříve se podá dexametazon po dávkách v průběhu dne, při poslední dávce se intravenózně aplikuje CRH. Koncentrace kortizolu se po užití CRH zvýší v případě cushingovy choroby (tj. při nádoru hypofýzy). [54,55]

3.2 TRH stimulační test

Tento test prokazuje a identifikuje formy hypotyreózy, konkrétně se používá k rozlišení hypotalamické nebo hypofyzární hypotyreózy, také se provádí k určení hypofyzárních nebo hypotalamických poruch, zjišťuje se činnost předního laloku hypofýzy. TRH test vyšetřuje osu hypotalamu-hypofýza. Tyreotropní hormon je pod vlivem tyreoliberinu, tento hormon se nachází a je produkován v hypotalamu. Pokud je tato osa porušena, snižuje se tvorba TSH. Koncentraci TSH ovlivňuje kromě tyreoliberinu také hladina hormonu štítné žlázy tyroxinu díky negativní zpětné vazbě. [56,57]

Před testem se stanoví hladina TSH v séru. Zkouška se provádí tak, že je podáno TRH v množství 200 ug intravenózně, a poté se měří sérový TSH. Mezi hlášené vedlejší účinky může patřit nevolnost, zvláštní chuť, nepříjemný pocit na hrudi, nucení na močení a mírné zvýšení krevního tlaku. [53,56,57]

Pacient trpí primární hypotyreózou, jeho hladina TSH rychle šplhá během měření s vrcholem během 20 a 30 minut. U hypertyreózy je koncentrace TSH nízká, protože nedochází k jeho produkci díky negativní zpětné vazbě, která reaguje na hladinu cirkulujícího tyroxinu v krvi. Při hypotalamické hypotyreóze dochází k postupnému narůstání koncentrace TSH. Měření musí trvat déle, hladina TSH je až v šedesáté minutě odlišná od normální hodnoty, hladina u zdravého jedince po 60 minutách klesá, zatímco u hypotalamické hypotyreózy se zvyšuje. U hypofyzární hypotyreózy sledujeme nižší koncentraci thyreotropinu, než jsou referenční hodnoty, protože příčina je v hypofýze. Například to může být nádor a hypofýza neprodukuje TSH, i když na něj působí hormon z hypotalamu. Obrázek 5 ukazuje křivky u jednotlivých situací, které jsem popisovala. [56, 57]



Obrázek 5- Srovnání hladiny TSH u hypertyreózy a hypotyreózy s normálním stavem upraveno z [57]

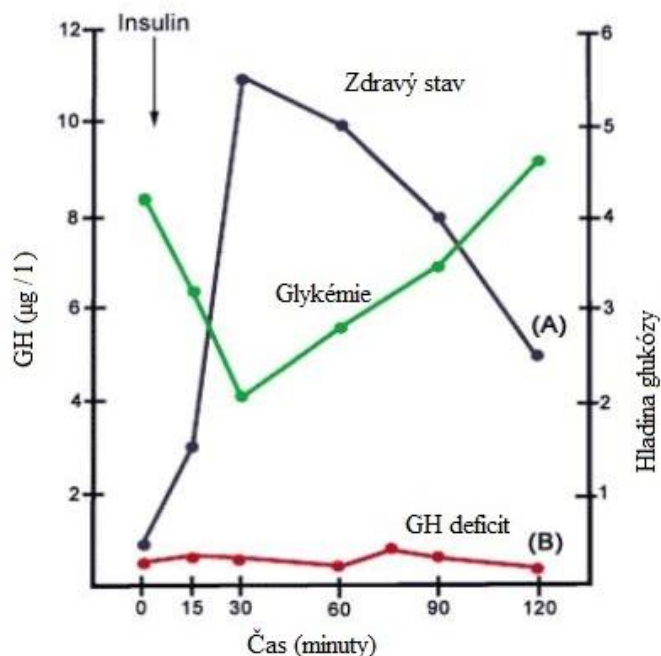
3.3 Test inzulínové tolerance

Test inzulínové tolerance (ITT) se považuje za zlatý standardní test pro hodnocení deficitu růstového hormonu. Principem testu je GH odpověď na hypoglykémii vyvolanou inzulínem, dochází ke zvýšené sekreci hormonu. Požadavek při tomto testu je pečlivý dohled alespoň jednoho lékaře, neboť se můžou vyvinout neuroglykopenické příznaky (tj. změny chování, slabost, zmatenost) nebo pozdní hypoglykémie. Test se neprovádí u pacientů s epileptickými záchvaty v anamnéze, pacientů trpících ischemickou chorobou srdeční, v těhotenství nebo u pacientů starších 55 let. [58,59]

V předvečer vyšetření se nesmí nic jíst, je povolené pouze pití vody. Intravenózně se podá inzulín v dávce, která se musí předem připravit (0,2 IU/kg tělesné hmotnosti) a ještě se zředí 0,9% NaCl tak, aby byl celkový objem roztoku 1 ml. Ze začátku sledujeme pouze glykémii, po dosažení hypoglykémie, která nastává přibližně po 20. minutě testu, se provádí krevní odběr k laboratornímu stanovení glukózy v krvi a GH. Poté se krev odebere po 20, 25, 30, 35, 40, 60 a 90 minutách. [53, 60]

Na obrázku 6 je porovnání křivek zdravého jedince a pacienta s GH při poklesu glykémie. Pokud hladina glykémie nepoklesne pod 2,2 mmol/l, nemůže se diagnostikovat deficit pacienta, proto se glykémie monitoruje celou dobu během vyšetření. Pokud

je hladina GH v séru kdykoliv během testu rovna nebo menší než $5 \mu\text{g} / \text{l}$, jedná se o těžký nedostatek GH. Hodnoty mezi $5 \mu\text{g} / \text{l}$ a $10 \mu\text{g} / \text{l}$ ukazují na částečný deficit. ^[53]



Obrázek 6- Hladina pacienta s GH deficitem a koncentrace GH zdravého jedince po podání insulínu upraveno z [61]

3.4 Glukagonový test

Pokud ITT nelze provést nebo je kontraindikován, jako další možností může být stimulační test glukagonu. Principem je stimulace sekrece GH glukagonem. Test se může provádět i na vyšetření funkce nadledvin u dětí, kdy glukagon působí na sekreci kortizolu. Výhodou glukagonového testu je jeho reprodukovatelnost, bezpečnost. Mezi nevýhody patří dlouhá doba trvání testu, který probíhá 3-4 hodiny a intramuskulární injekce může být pro někoho nepříjemná. Bylo dokázáno, že stimulace pomocí glukagonu je účinnější při intramuskulárním nebo subkutánním podání než v případě podání intravenózním. Často udávané nežádoucí účinky, které se vyskytují u 10% - 34% pacientů jsou nevolnost, zvracení a bolest hlavy. Tyto nežádoucí účinky se hlavně objevují v 60-120. minutě testu a většinou odezní po 240 minutách. Test by se neměl dělat u podvyživených lidí nebo pacientů, kteří jsou 48 hodin bez stravy. ^[58, 59]

Test začíná zavedením kanyly do žíly, poté se provede odběr krve kvůli hladině GH. Aplikuje se intramuskulárně případně intrasubkutánně glukagon, a to buď $1,0 \text{ mg}$ u pacientů, pokud váží 90 kg a méně, nebo $1,5 \text{ mg}$ glukagonu, pokud je tělesná hmotnost

pacienta větší než 90 kg. Krev se odebírá v čase 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 a 240 minut. [58, 59, 62]

Pokud je maximální koncentrace GH v séru, to bývá většinou v čase 150-180 minut, menší než 3 µg/l jedná se o těžký nedostatek růstového hormonu. Fyziologicky by hladina měla být nad 7 µg/l u dospělých, u dětí nad 10 µg/l. [59, 60]

3.5 GHRH-argininový test

GHRH-argininový test je další variantou stimulačního testu při deficitu růstového hormonu. GHRH patří mezi liberiny a je známý především svou úlohou při stimulaci uvolňování GH. Princip testu spočívá v potlačení uvolňování somatostatinu z hypotalamu pomocí molekuly argininu a díky tomu je podpořen vliv GHRH na adenohipofýzu. [62]

Pacient by neměl od půlnoci nic jíst, může pít jenom vodu. Vyšetření začíná ráno zavedením kanyly do žíly 30 minut před zahájením testu a 15 minut předem se vezme krev ke zjištění hladiny GH a IGF-1. Následný odběr pro stanovení koncentrace GH je předtím, než se podá arginin, značí se to jako čas 0 minut. Hned potom se aplikuje infuze hydrochloridu argininu a současně se intravenózně podá GHRH. V 15., 30., 45., 60., 75., 90., 105. a 120. minutě od začátku se konají další odběry pro zjištění hodnoty růstového hormonu v krvi. U většiny pacientů se objevuje zarudnutí obličeje jako vedlejší účinek, 5-10% pacientů má parestézii, nevolnost a ztrátu chuti. [62]

Pokud hladina GH u dospělých bude méně než 9 ng/ml, ukazuje to na kompletní nedostatek růstového hormonu, koncentrace od 9 až 16,5 ng/ml značí částečný deficit GH. [53, 62]

3.6 Test na macimorelin

Test je další možnost při deficitu STH. Macimorelin je STH sekretagog, to znamená, že u zdravého člověka stimuluje sekreci růstového hormonu. Výhoda spočívá v tom, že léčivo se podá orálně na rozdíl od jiných testů, také zde není riziko vzniku hypoglykémie, test trvá jenom 90 minut a odběrů krve není tolik. Vyskytující vedlejší účinek může být mírná dysgeuzie (tj. porucha vnímání chuti). [53, 63]

Zavede se kanyla intravenózně do předloktí. Musí se připravit roztok macimorelinu s vodou, dávka se vypočítá podle hmotnosti pacienta. Množství macimorelinu se udává 0,5 mg na 1 kg hmotnosti pacienta a množství vody pro použití se rovná tělesné hmotnosti pacienta. Podá se rekonstituovaný roztok macimorelinu per os a měří se koncentrace GH

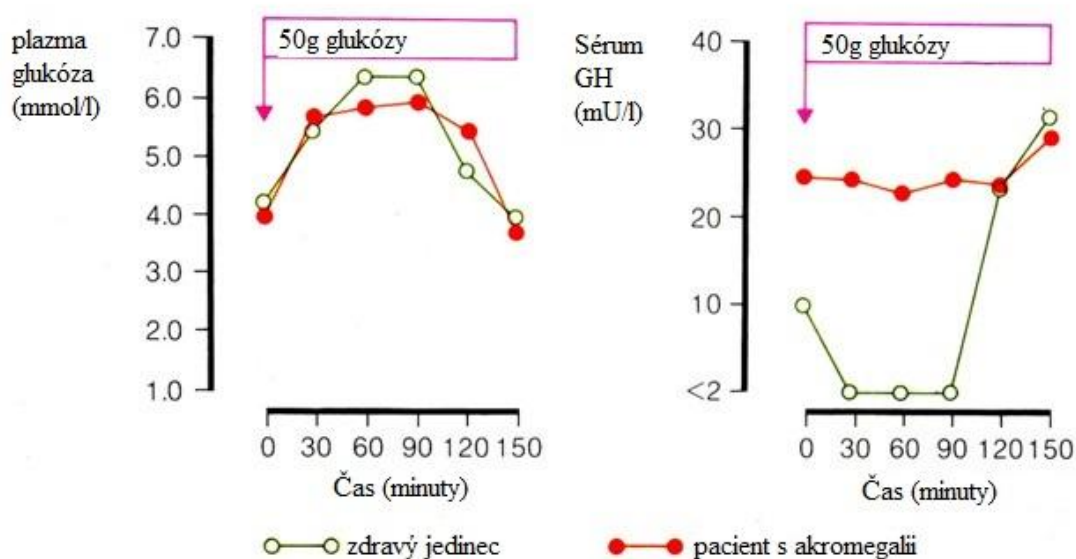
v 30., 45., 60. a 90. minutě. Pacient s deficitem GH dostává hodnotu 2,8 $\mu\text{g} / \text{l}$ a méně v libovolném časovém bodě. ^[53,52,63]

3.7 GH supresní test

GH supresní test se považuje za přínosný nejen pro diagnostiku akromegalie, ale také pro sledování léčby této nemoci. Test zkoumá změny koncentrace růstového hormonu po podání glukózy. Vliv glukózy na sekreci GH byl popsán již v 60. letech a v průběhu let byl potvrzen. Nejnovější důkazy podporují vysvětlení, že glukóza má vliv na zvýšené uvolňování somatostatinu z hypotalamu do krve a ten ovlivňuje vylučování STH z předního laloku hypofýzy. Takže dávka glukózy u zdravého jedince přechodně potlačí koncentraci růstového hormonu v krvi po dobu přibližně 2 hodin. A v případě pacienta s akromegálií je charakteristická nedostatečná suprese hormonu glukózou. Je třeba vzít v úvahu, že existují i jiné patologické stavy než je akromegalie, které jsou spojené s nedostatečným potlačením GH při orální zátěži jako je diabetess mellitus, onemocnění jater, hypertyreóza, anorexie. Toto vyšetření se nedoporučuje u pacientů trpící chronickým zvýšením glykémie, protože hyperglykémie ovlivní osu hypotalamu-hypofýza. ^[53,64, 65]

Pacient nemůže před vyšetřením ráno nic jíst. Kanyla se zavede do žíly a nechá se 30 minut v klidu, poté se zjišťuje hladina glykémie a růstového hormonu. Před podáním glukózy se ještě odebere krev. Vypije se roztok 75 gramů glukózy a po 30, 60, 90, 120 a 180 minutách se stanovuje hladina GH. ^[64, 65]

Obrázek 7 ukazuje rozdíl mezi GH normálního jedince a pacienta s akromegálií, i když v obou případech je glykémie zvýšená díky dávce glukózy. U akromegalie hladina GH není ovlivněná glukózou. Zdravý člověk má pokles koncentrace s návratem do normálních hodnot po 120 minutách, hladina menší než $1\mu\text{g}/\text{l}$ minimálně jednou během testu nám vylučuje akromegálii. ^[64, 65]



Obrázek 7- Srovnání glukózy a hladiny GH zdravého jedince a pacienta s akromegalií po podání glukózy upraveno z [66]

3.8 Test deprivace vody

Pravděpodobně nejnáročnějším krokem při zpracování podezření na DI je stanovení přesné diagnózy: centrální DI vs. nefrogenní DI vs. primární polydipsie. Tyto polyuricko-polydipsické stavy mohou prokazovat značné překrývání, a to jak v jejich klinickém projevu, tak v odpovědi na diagnostické testování. Je také možné, aby jedna nebo více forem syndromu polyurie-polydipsie koexistovaly u jednoho jedince. Potenciální chybná diagnóza a výsledná léčba mohou vést k závažným následkům. Například pokud je primární polydipsie chybně diagnostikována jako centrální DI a je zahájena léčba desmopresinem, může dojít k závažné hyponatrémii. ^[43,44]

U většiny pacientů s DI je osmolalita a hladina sodíku v séru při neomezeném příjmu tekutin v normálních mezích. Proto se provádí test deprivace vody, který by měl být schopen rozlišit různé formy DI. Test deprivace vody je také znám pod pojmy „test nepřímé deprivace vody“ a „test dehydratace“. Používá se termín „nepřímý“, protože tento test obecně nezahrnuje „přímá“ měření plazmatického ADH k diagnostice a rozlišení různých forem DI. Test deprivace vody je téměř vždy následován podáváním desmopresinu, aby se dále rozlišil mezi hypofyzární a nefrogenní DI. ^[47]

Základním principem testu deprivace vody je, že u jedinců s normální funkcí zadní hypofýzy a ledvin (nebo u pacientů s primární polydipsií) zvyšující se osmolalita plazmy

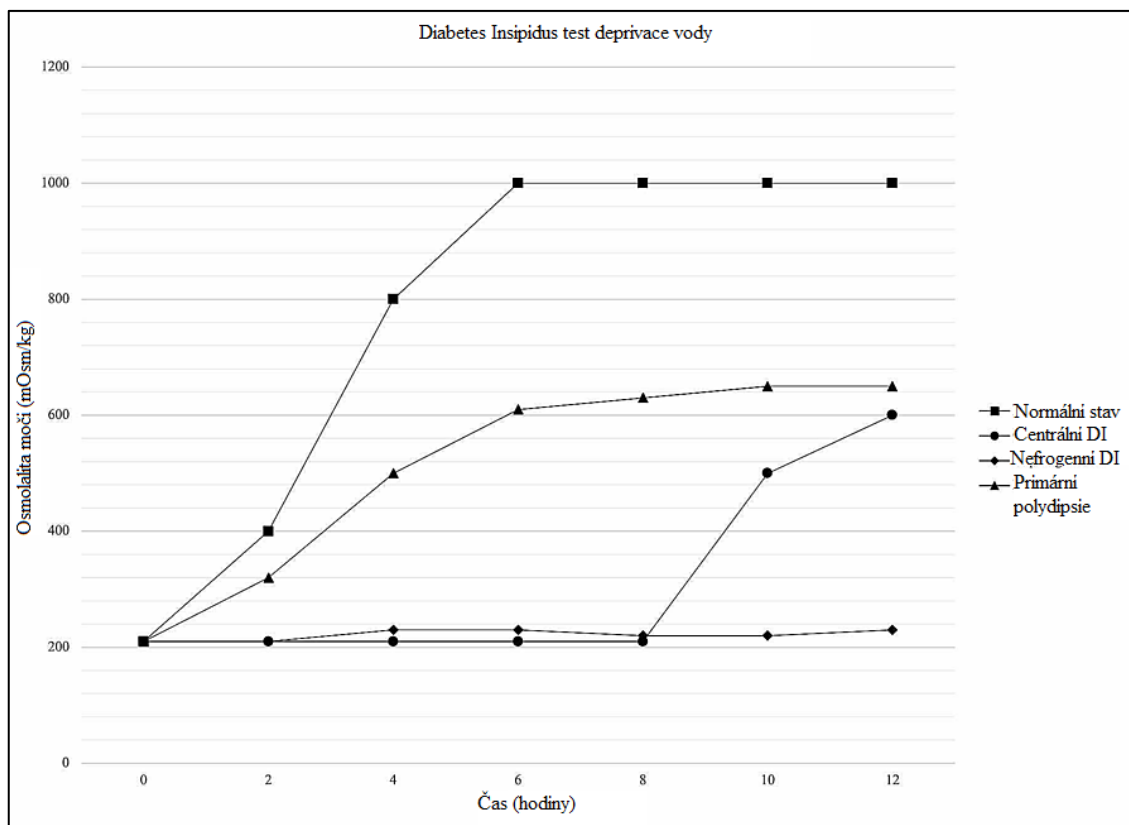
vede ke stimulaci uvolňování ADH ze zadní hypofýzy, což pak vede k reabsorpci vody v nefronech, a to má za následek snížený objem vylučované moči a zvýšení její osmolality. U centrálního nebo nefrogenního DI se moč nedokáže optimálně koncentrovat s nedostatkem vody a dochází k trvalému vylučování hypotonické moči. Jakmile je stanovena diagnóza DI, podávání desmopresinu může rozlišovat mezi centrální a nefrogenní DI. U centrálního DI, jakmile je nedostatečný účinek ADH nahrazen podáváním desmopresinu, by se měla osmolalita moči zvýšit, zatímco u nefrogenního DI, protože desmopresin je neúčinný kvůli nedostatečné renální reakci na jeho působení, nízká osmolalita moči přetrvává. [46,47]

Fáze dehydratace se provádí buď přes noc (pro ambulantní testování), nebo ráno (pro interní testování). Před zahájením se ještě měří hmotnost pacienta, krevní tlak a srdeční frekvence. Po zahájení testu by pacient neměl přijímat pitnou vodu. Hmotnost, krevní tlak a srdeční frekvence musí být zaznamenávány každou hodinu jako preventivní opatření vzhledem k riziku závažné ztráty vody a dehydratace při nedostatečném přístupu k vodě. Dále se před testováním získá osmolalita plazmy, sodík v séru, osmolalita moči (a plazmatický ADH nebo plazmatický kopeptin, pokud jsou k dispozici). Zaznamenává se každý výdej moči, osmolalita moči, sodík v plazmě a osmolality plazmy, pro usnadnění lze měřit jednou za 2 hodiny. Fáze dehydratace by měla být přerušena, pokud dojde k jednomu z následujících stavů: ztráta více než 3%-5% tělesné hmotnosti, zvýšení sodíku v séru nad normální limity ($\geq 146 - 150$ mmol / l), ortostatická hypotenze nebo ortostatické příznaky (závratě) nebo nesnesitelná žízeň (nebo pokud se pacient v případě ambulantního testování přizná k pití vody přes noc). [43,44,46,47]

Další fází testu je fáze, která zahrnuje podávání desmopresinu nebo se může podat syntetický ADH. Injekčně se podá 2 ug desmopresinu buď intravenózně nebo intramuskulárně. Po podání desmopresinu se u pacienta změní osmolalita moči, aby se porovнала s osmolalitou před podáním desmopresinu. [44,46,47]

Jednotlivé situace můžeme vidět na obrázku 8. U normálních jedinců se osmolalita moči obvykle zvyšuje až na 800 - 1 200 mOsm / kg, nefrogenní i centrální DI budou mít osmolalitu moči <300 mOsm / kg a současně v plazmě je osmolalita >300 mOsm / kg, nebo hladina sodíku je nad horní hranice (> 146 mmol / l). Odpověď na desmopresin se odlišuje nefrogenní a centrální DI. Pokud se zvýší osmolalita moči nejméně o $>50\%$ po podání desmopresinu jedná se o CDI, zatímco $<50\%$ zvýšení ukazuje na NDI. U primární polydipsie má deprivace vody za následek zvýšení osmolality moči

mezi 300- 800 mOsm / Kg (obvykle až 600-700 mOsm / Kg), bez podstatného zvýšení osmolality plazmy. Po podání desmopresinu je zvýšení osmolality moči o <9%. Test nepřímé deprivace vody se v těhotenství běžně nepoužívá. Pokud se používá u těhotné pacientky, je nutné pečlivé sledování. Dlouhodobé omezení vody může vést k dehydrataci plodu a matky, hypernatrémii a ke zvýšení rizika uteroplacentární nedostatečnosti. Gestační DI se potvrzuje, pokud je osmolalita séra vyšší než 285 mOsm / kg s osmolalitou moči nižší než 300 mOsm / l. [47]



Obrázek 8- Srovnání výsledných křivek po testu deprivace vody ^{upraveno z [67]}

4 Imunoanalytické metody

Imunologické testy využívají reakci antigenu s protilátkou za vzniku komplexu. Ke zviditelnění se protilátky nebo antigeny značí – enzymem, radionuklidem, barvivem, můžou se také využít fluorofory nebo chromofory. Imunoanalytické metody můžeme rozdělit podle množství antigenu/protilátky na kompetitivní (v omezeném množství) a nekompetitivní (v nadbytku).^[68]

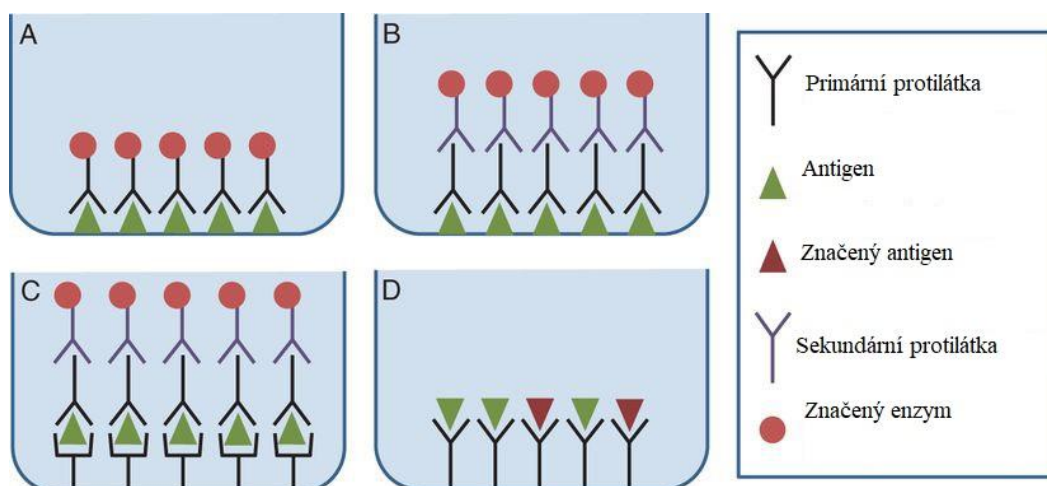
4.1 ELISA

ELISA patří mezi enzymaticky značené imunotesty a považuje se za zlatý standard imunotestů. Na základě enzymatického značení má tato metoda výhody jako je dlouhá životnost použitých reagensů, nejsou zde radiční rizika souvisejících s odpadními látkami, a to umožňuje analýzu více vzorků v krátkém časovém období při diagnostice a nízké náklady.^[68]

Enzymy, které se používají, nesmí být přítomny v biologickém vzorku pacienta, ani nesmí s analyzovaným biologickým vzorkem interferovat žádná jiná látka. Běžně se používají alkalická fosfatáza (původu *Escherichia coli*), acetylcholin esteráza (původu *Electrophorus electus*), křenovou peroxidázu (křen), beta galaktosidázu (původce *E. coli*) a značkovače enzymů glukózooxidázy (*aspergillus*).^[69,70]

Existují čtyři typy ELISA testů, obrázek 9 ukazuje rozdíly jednotlivých typů.

- Přímá ELISA
- Nepřímá ELISA
- Sendvičová ELISA
- Konkurenční ELISA^[71]



Obrázek 9- A) přímá ELISA B) nepřímá ELISA C) sendvičová ELISA D) konkurenční ELISA upraveno z [71]

4.1.1 Přímá ELISA

Přímá ELISA začíná potažením antigenu na mikrotitrační destičku. V prvním kroku se antigen přichytí na dno jamek destičky, která se poté inkubuje v termostatu buď při 37 °C jednu hodinu nebo při 4° C přes noc. Po inkubaci je následujícím krokem promytí destičky, aby se odstranil veškerý nezachycený antigen, pomocí pufru se blokuje nenavázaná místa na mikrotitrační destičce. Používají se na to činidla jako BSA (tj. fosfátový-pufrovaný fyziologický roztok), ovalbumin, aprotinin nebo jiné živočišné proteiny. Blokování míst na destičce má zabránit zachycení nespecifických protilátek, a tím naměření falešně pozitivních výsledků, proto je tento krok velmi důležitý. Promytím odstraníme blokovací pufr z destičky. Napipetuje se detekční protilátka a destička se inkubuje po dobu jedné hodiny. Název přímá ELISA proto, že enzymaticky značená protilátka se přímo naváže na požadovaný antigen. Destičku znovu promyjeme třikrát pomocí promývacího pufru a tím se smyje nenavázaná protilátka. Přidá se substrát například alkalická fosfatáza nebo křenová peroxidáza, poté se destička inkubuje. Během inkubace dochází buď k hydrolýze fosfátových skupin substrátu pomocí alkalické fosfatázy, nebo oxidaci substrátu pomocí křenové peroxidázy, a to má za následek barevnou změnu vzorku. Reakce se zastaví pomocí zastavovacího činidla. Do 10 minut po přidání zastavovacího roztoku by měly být výsledky odečteny při 450 nm. ^[68, 69]

Mezi výhody přímé ELISY patří méně kroků, díky tomu je rychlejší než ostatní typy, je jednodušší. Nevýhodou je nižší citlivost ve srovnání s jinými typy. ^[68]

4.1.2 Nepřímá ELISA

První kroky jsou stejné jako v případě přímého testu ELISA, ale po odstranění promývacího pufru následuje přidání dvou protilátek. Nepřímá ELISA používá dvě protilátky, primární protilátka slouží k navázání na antigen a sekundární protilátka spojená s enzymem doplňuje primární protilátku. Nejprve se přidá primární protilátka, následuje promývací krok. Poté se naváže sekundární s enzymem značená protilátka. Sekundární protilátka je většinou polyklonální (pochází z různých B buněk) a odpovídá na různé epitopy na primární protilátce. Díky tomu se může více sekundárních protilátek navázat na stejnou primární protilátku, tím se signál zesílí, a zároveň se i zvýší citlivost testu. Následující kroky jsou zase stejné jako u přímé ELISA metody. Promytím dojde k odstranění přebytečných protilátek, přidá se substrát a detekují se barevné změny.^[68, 69]

Nepřímý test ELISA má vyšší citlivost. Je flexibilnější kvůli mnoha možným primárním protilátkám, které lze použít. Hlavní nevýhodou je riziko zkřížené reaktivity mezi sekundárními detekčními protilátkami.^[68, 69]

4.1.3 Sendvičová ELISA

Sendvičová ELISA začíná tím, že jamky na mikrotitrační destičce jsou potaženy záchytnou protilátkou. Destička se zakryje a je inkubována přes noc při 4 °C. Následuje promývací krok s PSB. Vzorek se přidá do jamek potažené protilátkou, antigen se přichytí na záchytnou protilátku a inkubuje se 90 minut při 37 °C. Ještě jednou se promyje PSB, aby se odstranily nezachycené antigeny, a přidá se primární detekční protilátka. Označení „sendvičová“, protože antigen je vložen mezi dvě protilátky – zachytávající a detekční protilátku. Následuje inkubace a promytí puftrem. Přidá se sekundární protilátka značená enzymem, poté se destička nechá inkubovat. Destička se promyje a do jamek se přidá substrát, aby došlo k barevné změně.^[69]

Sendvičová ELISA je 2-5krát citlivější než zbývající testy ELISA. Nevýhodou jsou vyšší náklady a čas potřebný na provedení tohoto testu.^[68, 69]

4.1.4 Konkurenční ELISA

V této metodě se používají dva antigeny, antigen konjugovaný s enzymem a další antigen přítomný v testovacím séru. Současně se tedy přidá vzorek pacienta (s antigenem neoznačeným) a antigen značený enzymem. Tyto antigeny soutěží o vazbu na protilátku, která je potažena na povrchu jamek mikrotitrační destičky. Čím více je v séru pacienta antigenu, tím menší množství značeného antigenu se naváže na protilátku na destičce.

Pokud to měříme spektrofotometricky, tak výsledná křivka vypadá tak, že absorbance klesá se zvyšující se koncentrací antigenu. [68]

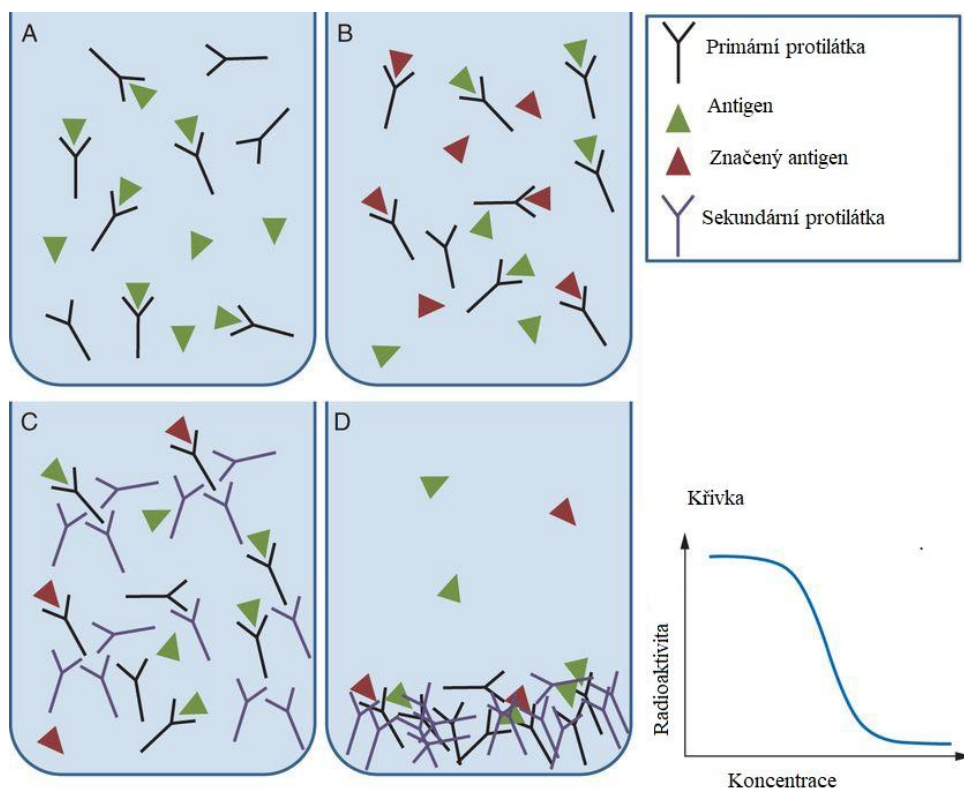
4.2 Radioimunoanalýza

V roce 1959 Yalow a Berson popsali první imunotest. Imunotest se prováděl ke zjištění koncentrace hormonu inzulínu a byl použit radioaktivně značený inzulín, tím se vyvinula první radioimunoanalýza. [69]

4.2.1 Konkurenční RIA

Princip konkurenční RIA spočívá v kompetitivní reakci mezi radioaktivně značeným antigenem (Ag^*), většinou se využívá ^{125}I , a měřeným antigenem (Ag) ve vzorku. V našem případě se tedy jedná o radioaktivně značený hormon a neznačený hormon v plazmě nebo v jiném roztoku a tyto hormony mezi sebou soutěží o protilátku. Pro provedení RIA se požaduje vzorek, který obsahuje vyžadovaný antigen. Dále je potřeba komplementární protilátka (Ab) a radioaktivně značená verze antigenu. Aby se antigen ze vzorku mohl vázat na protilátku, je potřeba antigen a protilátku společně inkubovat. Následně se k tomu dodá antigen, který bude radioaktivně značený. Radioaktivně značený antigen a antigen vzorku mezi sebou soutěží o vazebná místa na protilátce. Vytváří se dva typy komplexu, a tím jsou neznačený antigen-protilátka ($Ag-Ab$) a radioaktivně značený antigen-protilátka (Ag^*-Ab). Čím více je přítomno antigenu ve vzorku, tím méně radioaktivně značeného antigenu se naváže na protilátku. Dalším krokem je přidání druhé protilátky, sekundární protilátka se naváže na primární protilátku. Tím způsobí flokulaci roztoku a umožní oddělení primární protilátky od roztoku. Protože komplex antigen-protilátka je hustší než roztok, který obsahuje jenom volný antigen, centrifugace směsi nám dovolí separaci a zbude peleta obsahující komplex antigen-protilátka. Měří se radioaktivita pelety, tím se stanoví množství značeného komplexu, a tedy se stanoví hladina látky ve vzorku. Čím je větší výsledný signál, vzniká více komplexu značeného hormonu-protilátka, tím menší je koncentrace stanoveného neoznačeného hormonu ve vzorku. Obrázek 10 shrnuje laboratorní postup při konkurenční RIA. [71, 72]

Omezení v této metodě je poločas použitého radionuklidu, a tedy krátké doby použitelnosti, ^{125}I má $t^{1/2}=60$ dnů. Další nevýhodou je vznik radioaktivního odpadu a jeho obtížná likvidace. [72]



Obrázek 10- Postup při RIA: A) antigenem se naváže na protilátku B) přidání značeného antigenu C) přidání sekundární protilátky D) vytvoří se peleta ^{upraveno z [71]}

4.2.2 Imunoradiometrická analýza

V roce 1968 dosáhli Miles a Hales dalšího kroku tím, že vyvinuli nekompetitivní imunoradiometrické testy. Na rozdíl od předchozího typu RIA, v této metodě se k vyšetření využívají radioaktivně značené protilátky.^[71]

Zjednodušeně by to mohlo být vysvětleno tak, že se přidá stanovený antigen (hormon) a většího množství ^{125}I značená protilátka. Čím větší je přítomnost komplexu antigen-protilátka, tím větší je koncentrace stanoveného hormonu. Tento postup není v praxi obvykle využíván.^[72]

Většinou sek antigenu přidají dvě protilátky, které jsou v nadbytku. A využívá se toho, že každá protilátka je namířená proti jinému epitopu antigenu. První se na pevnou fázi přidá neoznačená protilátka (Ab_1), antigen se na ní naváže a poté se pro detekci napipetuje značená protilátka (Ab_2^*). Vzniká komplex $\text{Ab}_1\text{-Ag-Ab}_2^*$, který se odseparuje od nezreagované protilátky. Výhoda spočívá v tom, že má vyšší citlivost a její rozsah je širší než u RIA. Na druhou stranu může výsledky ovlivnit tzv. Hook efekt.^[71, 72]

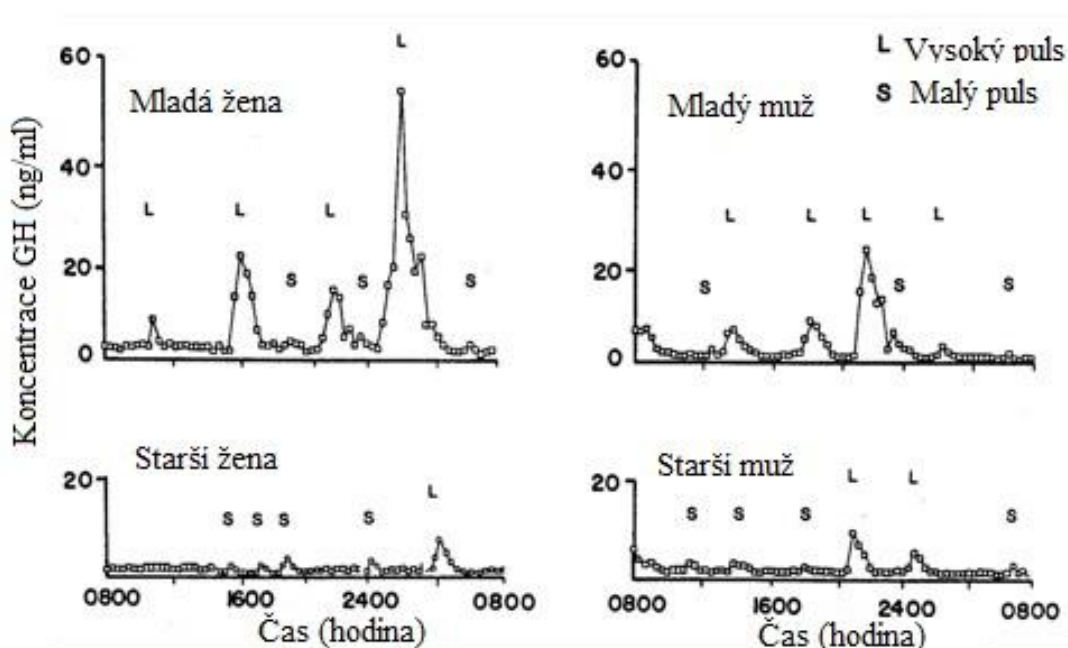
Hook efekt nastává, když je antigen přítomen ve velmi vysoké koncentraci, například u prolaktinu. V důsledku toho volný antigen soutěží se zachyceným antigenem na pevné fázi o vazbu na protilátky, a tím tvorbě $Ab_1-Ag-Ab_2^*$ komplexů. Tvoří se malé imunokomplexy a dochází ke ztrátě značené protilátky v tekuté fázi, a to vede k falešně nízkým hodnotám v konečném měření.^[73]

4.3 Chemiluminiscenční imunoanalýza

Chemiluminiscenční imunotest je vyšetření, kde značka neboli indikátor reakce, je luminiscenční molekula. Široký rozsah metody znamená vyšší analytickou citlivost a schopnost přesně detekovat zvýšené koncentrace protilátek bez ředění vzorku. Luminiscence je emise záření, které vzniká při přechodu elektronu z excitovaného stavu do základního stavu. Výsledná potenciální energie v atomu se uvolní ve formě světla. Chemiluminiscence proto, že se využívá chemické reakce k emisi záření. Výhoda ve spektrofotometrii spočívá v tom, že luminiscence je absolutní mírou, naproti tomu absorpce je relativní jednotka. Metody mohou být přímé, kdy se využívá luminoforových markerů, zatímco u nepřímé metody se aplikují enzymové markery. Použitými luminoforovými markery u přímého chemiluminiscenčního vyšetření jsou akridiniové a rutheniové estery. Enzymovými markery v nepřímých metodách jsou alkalická fosfatáza se substrátem adamantyl 1,2-dioxetan aryl fosfát a křenová peroxidáza s luminolem nebo jeho deriváty jako substrátem. Aktivace substrátů je pomocí chemické nebo enzymatické reakce spojené s imunologickou reakcí. Díky reakci dojde k přenesení do excitovaného stavu. Když chemická látka spadne do základního stavu z excitovaného, uvolní se fotony. Měří se množství emitovaného světla. Například použití luminolu a derivátů isoluminolu jako značek závisí na spojení imunotestu s enzymatickými reakcemi katalyzovanými peroxidázou. Pomocí zesilovače, může to být feroxyanid nebo kovové ionty, se dále zvyšuje elektronická aktivace, což vede ke zvýšené analytické citlivosti.^[74]

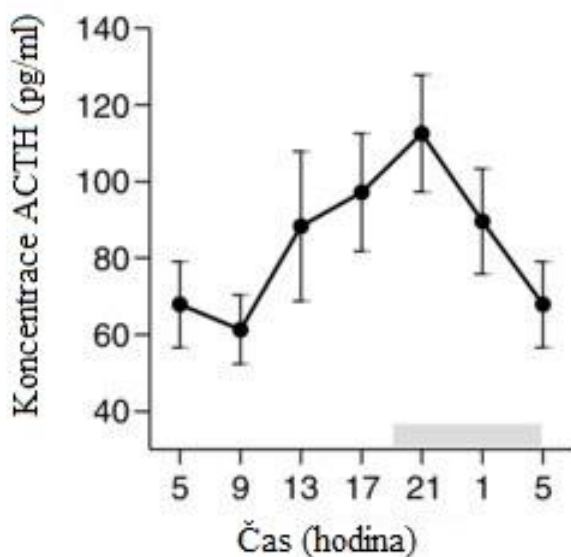
5 Faktory ovlivňující hladinu hormonů

Pohlavní steroidní hormony a GH rostou nejvíce v pubertě, v této době mají významný vliv na složení těla a sílu. V mladém dospělém věku se jejich hladina zvyšuje a postupně s přibývajícím věkem klesá. Snížení hladiny GH je doprovázeno řadou změn v těle, které jsou patrné při normálním stárnutí, zahrnuje to snížení hustoty kostí, ztrátu svalové hmoty, nárůst tělesného tuku, snížený výkon při cvičení, tenkou suchou kůži. Obrázek 11 ukazuje porovnání hladiny GH mezi hladinou mladé ženy se starší a mladého muže se starším mužem. ^[75]

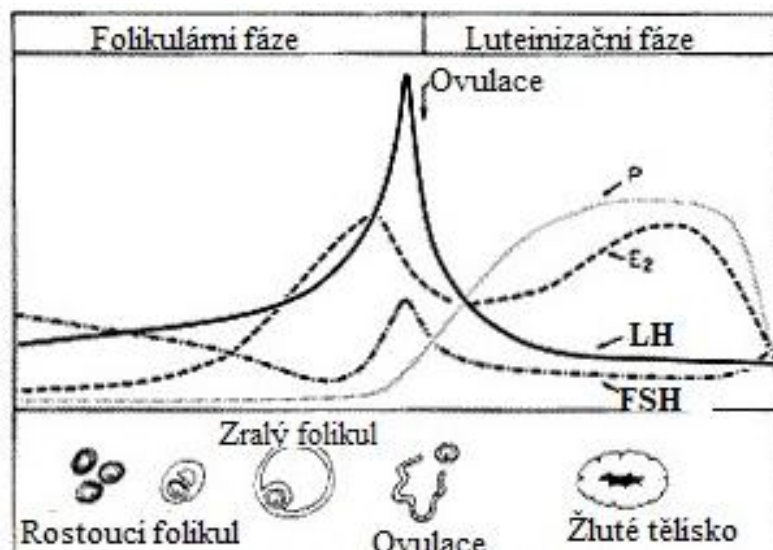


Obrázek 11- Koncentrace GH s věkem klesá ^{upraveno z [75]}

Hladinu některých hormonů vykazuje opakující se jev. Cyrkadiánní variace také ovlivní výslednou koncentraci hormonu. Jde o periodický jev, který se pravidelně opakuje každých 24 hodin. Hladina hormonu se mění podle denní doby. Například maximální hodnoty hormonu ACTH můžeme naměřit přibližně kolem 9. hodiny večer, to můžeme vidět na obrázku 12. Během menstruačního cyklu dochází k cyklickým změnám FSH a LH každý měsíc. Při zrání folikulu se hladina FSH zvyšuje díky pozitivní zpětné vazbě s estrogenem, který je syntetizován žlutým tělískem. Po prasknutí folikulu koncentrace estrogenu klesá a v důsledku toho klesne hladina FSH. Na začátku folikulární fáze se zvyšuje LH s vrcholem na konci fáze před ovulací, poté zase jeho hladina klesá. ^[76, 77]



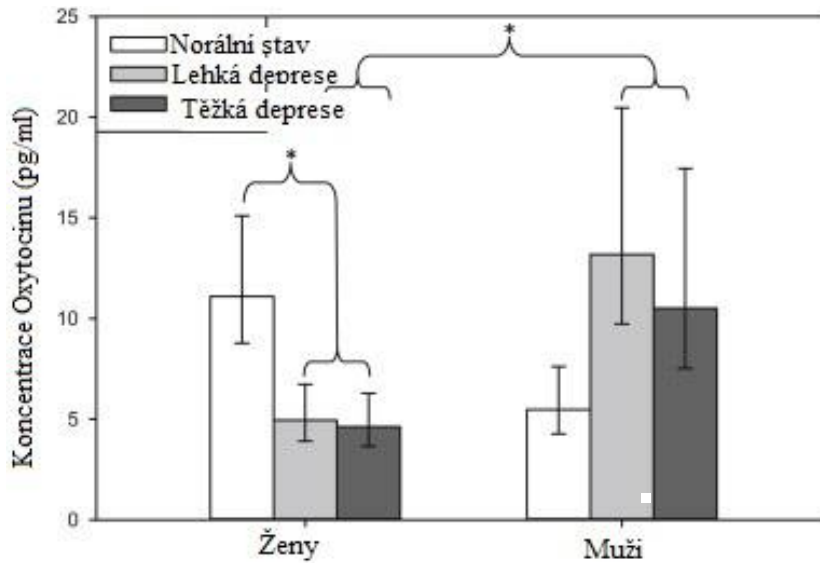
Obrázek 12- Cyrkadiální změny ACTH během dne ^{upraveno z [78]}



Obrázek 13- Cyklické změny při ovulaci ^{upraveno z [77]}

Další z faktorů, který ovlivňuje hladinu hormonu v krvi, je stres a celková psychická pohoda pacienta. Například plazmatická koncentrace oxytocinu u pacientů s depresí je nižší než u zdravého jedince. Obrázek 14 ukazuje, jak deprese ovlivňuje koncentraci oxytocinu, a to jak u žen, tak u mužů. Hladina hormonu negativně koreluje s úzkostí a velkou depresí, u žen se sociální izolací, také bývá nižší u žen s hraniční poruchou osobnosti, ve srovnání se zdravými jedinci. Vysvětlení spočívá v tom, že oxytocin má roli v podpoře sociálních vazeb, vyplavuje se během pozitivních sociálních interakcí, navozuje příjemné pocity, způsobuje dobrou náladu. A naopak stres, konflikty, odmítnutí, to vše vede k jeho snížení. Naproti tomu muži vykazují zcela jinou odpověď ve srovnání

s ženami. U mužů dochází k lehkému zvýšení vyplavování oxytocinu jako mechanismus ke snížení stresu.^[79]



Obrázek 14-Koncentraceoxytocinu u deprese a u normálního stavu upraveno z [79]

Další faktor může být strava, proto se většinou doporučuje přijít pacientovi hned ráno na lačno. Také je potřeba vzít na vědomí, že některé léky přispívají k vyšší hladině hormonů. Měli bychom se vyvarovat hemolýze vzorku. Hemolýza je způsobena rozpadem erytrocytů a jejich obsah se vylíje do séra nebo plazmy. Při stanovování je imunologická reakce ovlivněna hemolýzou tím, že dochází k uvolnění enzymů, které potom ničí vzorky. Měření ACTH je velmi citlivé na hemolýzu. Nejčastěji hemolýza vzniká při odběru vzorku, ale také může vzniknout při dopravě, zpracování nebo uchování vzorku. Dezinfekce, používaná jehla, míchání, zkumavka, teplota při skladování a dopravě, rychlost transportu, doba skladování, to všechno má vliv na vznik hemolýzy. Laboratoř by se měla vždy řídit doporučenými postupy. Například hormon ACTH by měl být ve vychlazené plastové zkumavce, přepravován zmrazený, doporučen je suchý led, transport by měl být co nejrychlejší. ACTH je stabilní po dobu 24 hodin při pokojové teplotě, pokud by měl být skladován déle, je nutné, aby byl také zmrazený.^[80, 81]

ZÁVĚR

K diagnostice a monitorování průběhu jednotlivých onemocnění se využívají dynamické testy. Existují dva typy dynamických testů, stimulační testy se používají při podezření na sníženou funkci orgánů a supresivní testy zase při podezření na hyperfunkci. Tyto testy většinou probíhají tak, že pacient ráno přijde, a ještě v ten samý den může jít domů, nebo je pacient hospitalizovaný přes noc.

Laboratoře většinou využívají imunoanalytické metody ke stanovení hladiny hormonů v krvi. Mají na výběr mezi enzymatickými, chemiluminiscenčními a radioimunoanalýzami. Princip je u všech případů stejný. Základem je vznik imunokomplexu antigen-protilátka, v čem se liší je značení protilátky nebo antigenu. U ELISA je enzymatické značení pomocí křenové peroxidázy nebo alkalické fosfatázy. Radioimunoanalýza používá radionuklid, často využívaným radionuklidem je ^{125}I . Akridinové a rutheniové estery se upotřebují v přímé chemiluminiscenční analýze, při nepřímé chemiluminiscenční vyšetření to zase jsou alkalická fosfatáza se substrátem adamantyl 1, 2-dioxetan aryl fosfát a křenová peroxidáza s luminalem. Vše se poté měří spektrofotometricky. Při výběru metody bychom měli vzít v úvahu citlivost jednotlivých analýz, kdy ELISA měří koncentraci hormonů v rozsahu 10^{-9} g, RIA od 10^{-9} g do 10^{-12} g a citlivost chemiluminiscenční analýzy je 10^{-15} g. Specifita, doba provedení jednotlivých testů, cena a radiační rizika, tyto všechny parametry také ovlivní konečný výběr metody. Například enzymatické testy jsou daleko levnější než chemiluminiscenční.

Existuje několik faktorů, které ovlivňují výslednou naměřenou koncentraci hormonů. Tyto faktory bychom měli vzít v úvahu a vyvarovat se tak chybných měření. Jedním z faktorů je věk, například hladina růstového hormonu se s věkem snižuje, největší koncentraci můžeme naměřit v období dospívání, kdy je zodpovědný za správný vývoj těla. Dále je důležité mít na paměti, že hladina některých hormonů se mění periodicky. Adrenokortikotropní hormon má cirkadiánní rytmus, to znamená, že jeho hladina v krvi se mění během dne. Dalšími hormony jsou luteinizační a folikulostimulační hormony, které se cyklicky mění během měsíce. Také je prokázáno, že stres ovlivňuje sekreci některých hormonů a v konečném důsledku jsou naměřené hodnoty zkreslené. I po odebrání krevního vzorku existují faktory, které ovlivní výsledky měření. Ať už to je materiál použité zkumavky, u stanovení adrenokortikotropního hormonu se používá skleněná zkumavka. Také je tam důležitá doba dopravy a jejich podmínky, jestli vzorek

krve má být skladován při nízkých teplotách či nemusí. Například hormon oxytocin je poměrně stabilní, naopak adrenokortikotropní hormon je poměrně nestabilní a na tyto všechny faktory bychom si měli dát pozor.

Díky této bakalářské práci jsem se dozvěděla více o různých onemocněních a dynamických testech, které jsem předtím neznala. Také jsem si rozšířila informace o jednotlivých imunologických metodách, a jakým způsobem je využít a v čem se konkrétně liší.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] NUSSEY, S., WHITEHEAD, S. Endocrinology: An Integrated Approach [online]. Oxford:BIOS Scientific Publishers, 2001. ISBN:978-1-85996252-7. [cit.2021-04-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27/#A1267>
- [2] SADIA, I., TAHIR, B. I. Anatomy, Adenohypophysis (Pars Anterior, Anterior Pituitary) [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2021. PMID:30085581. [cit.2021-04-05]. Dostupné z:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519039/>
- [3] LARKIN, S., ANSORGE, O. Development And Microscopic Anatomy Of The Pituitary Endotext [online]. South Dartmouth:MDText.com, Inc., 2000. PMID:28402619. [cit.2021-04-05]. Dostupné z:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK425703/>
- [4] ČIHÁK, R., GRIM, M. Anatomie 2, 3. upravené a doplněné vydání. Praha: Grada, 2013. ISBN 978-80-247-9210-1.
- [5] MARIOTTI, S., BECK-PECCOZ, P. Physiology of the Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis [online]. South Dartmouth: MDText.com, Inc., 2000. PMID:25905193. [cit.2021-03-11]. Dostupné z:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278958/>
- [6] INFORMEDHEALTH.ORG. How does the pituitary gland work? [online]. Germany: Institute for Quality and Efficiency in Health Care, 2006. [cit.2021-04-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279389/>
- [7] SADIQ, N. M., TADI, P. Physiology, Pituitary Hormones [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2021. PMID:32491488. [cit.2021-02-05]. Dostupné z:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557556/>
- [8] PIRAHANCHI, Y., TORO, F., JIALAL, I. Physiology, Thyroid Stimulating Hormone [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2021. PMID: 29763025. [cit.2021-02-05]. Dostupné z:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499850/>
- [9] CHEGGSTUDY [online]. Dostupné z: <https://www.chegg.com/learn/biology/anatomy-physiology-in-biology/hypothalamus-pituitary-thyroid-axis>.
- [10] OSILLA, E. V., SHARMA, S. Oxytocin [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2021. PMID:29939625. [cit.2021-04-19].

Dostupné z:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507848/>

[11] WILLIAMS, C. J., ERICKSON, G. F., Morphology and Physiology of the Ovary [online]. South Dartmouth: MDText.com, Inc., 2000. PMID:25905186. [cit.2021-04-19].

Dostupné z:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278951/>

[12] FONTANA, J., et. al. Funkce buněk a lidského těla [online]. Praha: 3LF UK, 2013. [cit.2021-06-11]. Dostupné z :

<http://fbt.cz/skripta/xi-regulacni-mechanismy-1-endokrinni-regulace/2-obecne-principy-endokrinni-regulace/>

[13] ALEEN, M. J., SHARMA, S., Physiology, Adrenocorticotrophic Hormone (ACTH) [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2021. PMID:29763207. [cit.2021-04-19].

Dostupné z:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500031/>

[14] LIM, CH. T., KHOO, B. Normal Physiology of ACTH and GH Release in the Hypothalamus and Anterior Pituitary in Man [online]. South Dartmouth: MDText.com, Inc., 2000. PMID: 25905340. [cit.2021-04-19].

Dostupné z:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279116/>

[15] ORLOWSKI, M., SARAIO, M. S. Physiology, Follicle Stimulating Hormone [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2021. PMID:30571063. [cit.2021-04-19].

Dostupné z:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535442/>

[16] Holesh, J.E., Bass, P. N., Lord, M. Physiology, ovulation [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2021. PMID:28723025. [cit.2021-04-19].

Dostupné z:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441996/>

[17] NEDRESKY, D., SINGH, G. Physiology, Luteinizing Hormone [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2021. PMID:30969514. [cit.2021-04-19].

Dostupné z:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539692/>

[18] CUZZO, B., PADALA, S. A., LAPPIN, S. L. Physiology, Vasopressin [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2021. PMID:30252325. [cit.2021-04-19].

Dostupné z:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526069/>

[19] ADIGUN, O. O., NGUYEN, M., FOX, M.J., ANASTASOPOULOU, C. Acromegaly [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2021. PMID:28613736. [cit.2021-02-09].

Dostupné z:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK431086/>

- [20] HANNAH-SHMOUNI, F., TRIVELLIN, G., STRATAKIS, C. A. Genetics of gigantism and acromegaly [online]. Growth Horm IGF Res., 2016. PMID: 27657986. [cit.2021-02-09]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5154831/>
- [21] BOGUSŁAWSKA, A, KORBONITS, M. Genetics of Acromegaly and Gigantism [online]. J Clin Med., 2021. DOI:10.3390/jcm10071377 [cit.2021-02-09]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8036715/>
- [22] ADELMAN, D.T., LIEBERT, K.J., NACHTIGALL, L.B., LAMERSON, M., BAKKER, B. Acromegaly: the disease, its impact on patients, and managing the burden of long-term treatment [online]. Int J Gen Med., 2013. DOI:10.2147/IJGM.S38595. [cit.2021-02-09]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3555549/#b5-ijgm-6-031>
- [23] ALDALLAL, S. Acromegaly: a challenging condition to diagnose [online]. Int J Gen Med., 2018. DOI:10.2147/IJGM.S38594. [cit.2021-02-09]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6112775/>
- [24] KRŠEK, M. Růstový hormon, osa GH-IGF1 a metabolismus glukózy [online]. Praha: Vnitřní lékařství 2016. 62(11, Suppl 4), s. 62–66. DOI:10.1111/j.1365-2265.2009.03667.x. [cit.2021-02-09]. Dostupné z: <https://www.casopisvnitrnilekarstvi.cz/pdfs/vnl/2016/91/11.pdf>
- [25] DRBALOVÁ, K. Sekundární endokrinní hypertenze [online]. Praha: Medicína pro praxi, 2011. DOI:10.33678/cor.2011.111. [cit.2021-02-09]. Dostupné z: <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2011/12/04.pdf>
- [26] SATA, A., HO, K. K. Y. Growth hormone measurements in the diagnosis and monitoring of acromegaly [online]. Pituitary 10, 2007. s. 165-172. DOI:10.1007/s11102-007-0034-x. [cit.2021-06-11]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17458702/>
- [27] CONG, M., QIU, S., LI, R., SUN, H., CONG, L., HOU, Z. Development of a predictive model of growth hormone deficiency and idiopathic short stature in children [online]. Exp Ther Med., 2021. DOI:10.3892/etm.2021.9925. [cit.2021-03-16]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8005695/>
- [28] HO, KK. Diagnosis and management of adult growth hormone deficiency [online]. Endocrine, 2000. DOI:10.1385/ENDO:12:2:189 [cit.2021-03-16].

Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1385/ENDO:12:2:189>

[29] KIM, J.H., CHAE, H.W., CHIN, S.O., KU, C.R., PARK, K.H., LIM, D.J., KIM, K.J., LIM, J.S., KIM, G., CHOI, Y.M., AHN, S.H., JEON, M.J., HWANGBO, Y., LEE, J.H., KIM, B.K., CHOI, Y.J., LEE, K.A., MOON, S.S., AHN, H.Y., CHOI, H.S., HONG, S.M., SHIN, D.Y., SEO, J.A., KIM, S.H., OH, S., YU, S.H., KIM, B.J., SHIN, C.H., KIM, S.W., KIM, C.H., LEE, E.J. Diagnosis and Treatment of Growth Hormone Deficiency A Position Statement from Korean Endocrine Society and Korean Society of Pediatric Endocrinology [online]. Endocrinol Metab (Seoul), 2020. DOI:10.3803/EnM.2020.35.2.272. [cit.2021-03-16]. Dostupné z:

<https://www.e-enm.org/journal/view.php?doi=10.3803/EnM.2020.35.2.272>

[30] STANLEY, T. Diagnosis of Growth Hormone Deficiency in Childhood [online]. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes., 2012. DOI:10.1097/MED.0b013e32834ec952. [cit.2021-03-16].

Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3279941/>

[31] GHIGO, E., AIMARETTI, G., CORNELI, G. Diagnosis of adult GH deficiency [online]. Growth Hormone and IGF Research, 2008. 18 (1) s.1-16 DOI:10.1016/j.ghir.2007.07.004. [cit.2021-03-16]. Dostupné z:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096637407000949?via%3Dihub>

[32] RAFF, H., SHARMA, S.T., NIEMAN, L.K. Physiological basis for the etiology, diagnosis, and treatment of adrenal disorders: Cushing's syndrome, adrenal insufficiency, and congenital adrenal hyperplasia [online]. Compr Physiol., 2014. DOI:10.1002/cphy.c1300035. [cit.2020-12-27]. Dostupné z:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4215264/>

[33] RAFF, H., CARROLL, T. Cushing's syndrome: from physiological principles to diagnosis and clinical care [online]. J Physiol., 2015. DOI:10.113/jphysiol.2014.282871. [cit.2020-12-27]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4324701/>

[34] SHARMA, S. T., NIEMAN, L. K., FEELDERS, R. A. Cushing's syndrome: epidemiology and developments in disease management [online]. Clin Epidemiol., 2015. DOI:10.2147/CLEP.S44336. [cit.2020-12-27]. Dostupné z:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4407747/>

[35] NIEMAN, L. K. Recent Updates on the Diagnosis and Management of Cushing's Syndrome [online]. Seoul: Endocrinol Metab., 2018. DOI:10.3803/EnM.2018.33.2.139.

- [cit.2020-12-27]. Dostupné z:<https://www.enm.org/journal/view.php?doi=10.3803/EnM.2018.33.2.139>
- [36] Ďurovcová, V., Kršek, M. Cushingův syndrom – charakteristika, diagnostika a léčba [online]. Praha: Medicína pro praxi 2009. 6 (6) s. 295-299. DOI:10.36290/vnl.2020.040. [cit.2020-12-27].
Dostupné z: <https://www.solen.cz/pdfs/med/2009/06/02.pdf>
- [37] KRŠEK, M. Cushingův syndrom a kardiovaskulární riziko [online]. Praha: Kardiol Rev Int Med., 2015. 17(2) s.161-166. DOI:10.1210/jc.2008-0125.20. [cit.2020-12-27].
Dostupné z: <https://www.kardiologickarevue.cz/casopisy/kardiologicka-revue/2015-2/cushinguv-syndrom-a-kardiovaskularni-riziko-52114>
- [38] NISHIOKA, H., YAMADA, S. Cushing's Disease [online]. J Clin Med., 2019. DOI:10.3390/jcm8111951. [cit.2020-12-27]. Dostupné z:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6912360/>
- [39] KRŠEK, M. Hyperprolaktémie a prolaktinomy [online]. Praha: Interní medicína pro praxi 2002/11 s. 530-536. [cit.2021-04-05]. Dostupné z:
<https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2002/11/02.pdf>
- [40] Yatavelli, R.K.R, Bhusal, K. Prolactinoma. [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2021. PMID:29083585. [cit.2021-04-05].
Dostupné z:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459347/>
- [41] Auriemma, R.S., Del Vecchio, G., Sciarati, R., Pirchio, R., Liccardi, A., Verde, N., de Angelis, C., Menafra, D., Pivonello, C., Conforti, A., Alviggi, C., Pivonello, R., Colao, A. The Interplay Between Prolactin and Reproductive System: Focus on Uterine Pathophysiology [online]. Lausanne: Front Endocrinol, 2020. DOI:10.3389/fendo.2020.594370. [cit.2021-04-05].
Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33162942/>
- [42] MOLITCH, M. E., DRUMMOND, J., KORBONITS, M. Prolactinoma Management Endotext [online]. South Dartmouth: MDText.com, 2000. PMID:25905397. [cit.2021-04-05]. Dostupné z:
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279174/#emergencies_management-of-a-prolactinoma.1
- [43] ROBERTSON, G.L. Diabetes insipidus: Differential diagnosis and management [online]. Oxford: Best Pract Res Clin Endocrinol Metab., 2016. Mar, 30(2) s.205-218.

DOI:10.1016/j.beem.2016.02.007. [cit.2021-02-21]. Dostupné z:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1521690X16000129?via%3Dihub>

[44] CHRIST-CRAIN, M., WINZELER, B., REFARDT, J. Diagnosis and management of diabetes insipidus for the internist: an update [online]. J Intern Med., 2021.

DOI:10.1111/joim.13261. [cit.2021-02-21]. Dostupné z:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/joim.13261>

[45] ČÁP, J. Léčba diabetes insipidus u dospělých [online]. Medicína pro praxi 2013. 10(1) s.22-25. [cit.2021-02-21].

Dostupné z: <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2013/01/05.pdf>

[46] MUTTER, C.M., SMITH, T., MENZE, O., ZAKHARIA, M., NGUYEN, H. Diabetes Insipidus: Pathogenesis, Diagnosis, and Clinical Management [online]. Cureus, 2021. DOI:10.7759/aureus.13523. [cit.2021-02-21]. Dostupné z:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7996474/>

[47] GUBBI, S., HANNAH-SHMOUNI, F., KOCH, C.A., VERBALIS, J.G. Diagnostic Testing for Diabetes Insipidus Endotext [online]. South Dartmouth: MDText.com, 2000. PMID:30779536. [cit.2021-02-21]. Dostupné z:

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537591/#diagn-diabet-insip.DIAGNOSING_DIABETES_I

[48] YASIR, M., MECHANIC, O.J. Syndrome of Inappropriate Antidiuretic Hormone Secretion [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2021. PMID:29939554. [cit.2021-04-15].

Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507777/>

[49] PLIQUETT, R. U., OBERMULLER, N. Endocrine testing for the Syndrome of Inappropriate Antidiuretic Hormone Secretion (SIADH) Endotext [online]. South Dartmouth: MDText.com, 2000. PMID:25905283. [cit.2021-04-15].

Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279055/>

[50] CHUNG T.T., KOCH CH. A., MONSON J. P. Hypopituitarism Endotext [online]. South Dartmouth: MDText.com, 2000. PMID:25905222. [cit.2021-04-15].

Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278989/>

[51] GADA, J. V., SANAMANDRA, P., BARASARA, S. A., CHAUHAN, Y. V., BHAGWAT, N. M. Current Status of Diagnosis and Management of Functioning

- Pituitary Tumors: Part II. [online]. *Neurol India.*, 2020 May-Jun;68(Supplement) s.20-27. [cit.2021-04-15]. Dostupné z: <https://www.neurologyindia.com/article.asp?issn=0028-3886;year=2020;volume=68;issue=7;spage=20;epage=27;aulast=Gada>
- [52] GOUNDEN, V, BASIT,H, JIALAL, I. Hyperpituitarism [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2021. PMID:29489207. [cit.2021-04-15]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482233/>
- [53] PARTSCH, C. J., MÖNIG, H., SIPPELL, W. G. Endokrinologická funkční diagnostika, Páté, přepracované a rozšířené vydání, Praha: Galén, 2009. ISBN-978-80-7262-579-6.
- [54] NIEMAN, L. K., BILLER, B. M., FINDLING, J. W., NEWELL-PRICE, J., SAVAGE, M. O., STEWART, P. M., MONTORI, V. M. The diagnosis of Cushing's syndrome: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline [online]. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2008 May, 93(5) s.1526-1540. DOI:10.1210/jc.2008-0125. [cit.2021-04-20]. Dostupné z:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2386281/>
- [55] GILBERT, R., LIM, E. M. The diagnosis of Cushing's syndrome: an endocrine society clinical practice guideline [online]. *Clin Biochem Rev.*, 2008 Aug, 29(3) s.103-106. PMID:19107223. [cit.2021-04-20]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2605410/>
- [56] FRANKLYN, J., SHEPHARD, M.Evaluation of Thyroid Function in Health and DiseaseEndotext [online]. South Dartmouth: MDText.com, 2000. PMID:25905402. [cit.2021-04-20]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK285546/>
- [57] DICKSON, B., DUNLA, P.Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations, 3rd edition. [online]. Boston: Butterworths, 1990. PMID:21250093. [cit.2021-04-20]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK249/>
- [58] BOGUSZEWSKI, C. L. Glucagon stimulation test: has its time come? [online]. *Endocrine*, 2017 Sep, 57(3) s. 361-363. DOI:10.1007/s12020-017-1356-8. [cit.2021-04-20]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12020-017-1356-8>
- [59] GHIGO, E., AIMARETTI, G., CORNELI, G. Diagnosis of adult GH deficiency [online]. *Growth Horm IGF Res.*, 2008 Feb, 18(1) s.1-16.

DOI:10.1016/j.ghir.2007.07.004. [cit.2021-04-20]. Dostupné

z:<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096637407000949?via%3Dihub>

[60] SECCO, A., DI IORGI, N., NAPOLI, F., CALANDRA, E., GHEZZI, M., FRASSINETTI, C., PARODI, S., CASINI, M.R., LORINI, R., LOCHE, S., MAGHNIE, M. The glucagon test in the diagnosis of growth hormone deficiency in children with short stature younger than 6 years [online]. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2009. Nov, 94(11) s. 4251-4257. DOI:10.1210/jc.2009-0779. [cit.2021-04-20].

Dostupné z: <https://academic.oup.com/jcem/article/94/11/4251/2596372>

[61] TILBE, LOURDES, M. ENDOCRINE FUNCTION TESTS.2014. [cit.2021-06-12].

Dostupné z: <https://www.slideserve.com/cleo-phelps/endocrine-function-tests>

[62] CORNELI, G., GASCO, V., PRODAM, F., GROTTOLI, S., AIMARETTI, G., GHIGO, E. Growth hormone levels in the diagnosis of growth hormone deficiency in adulthood [online]. *Pituitary*, 2007.,10(2) s.141-149. DOI:10.1007/s11102-007-0031-0. [cit.2021-04-20].

Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11102-007-0031-0>

[63] GARCIA, J. M., BILLER, B. M. K., KORBONITS, M., POPOVIC, V., LUGER, A., STRASBURGER, C. J., CHANSON, P., SWERDLOFF, R., WANG, C., FLEMING, R. R., COHEN, F., AMMER, N., MUELLER, G., KELEPOURIS, N., STROBL, F., OSTROW, V., YUEN, K. C. J. Sensitivity and specificity of the macimorelin test for diagnosis of AGHD [online]. *Endocr Connect.*, 2021 Jan,10(1) s.76-83. DOI:10.1530/EC-20-0491. [cit.2021-04-20]. Dostupné z:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7923131/>

[64] NAZAIMOON, W. M., SATGUNASINGAM, N., KHALID, B. A. Evaluation of suppression of growth hormone levels following a 75g oral glucose tolerance test [online]. *Med J Malaysia*, 1992 Jun, 47(2) s.103-9. PMID:1494329. [cit.2021-04-20].

Dostupné z: http://www.e-mjm.org/1992/v47n2/Human_growth_hormone.pdf

[65] AKIROV, A., MASRI-IRAQI, H., DOTAN, I., SHIMON, I. The Biochemical Diagnosis of Acromegaly [online]. *J Clin Med.*, 2021. DOI:10.3390/jcm10051147. [cit.2021-04-20].

Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7967116/>

- [66] Hypofýza Anatomie a histologie hypofýzy Růstový hormon a jeho regulace Akce nadbytku a nedostatku růstového hormonu [online]. Easter Webb, 2016. [cit.2021-06-12]. Dostupné z: <https://slideplayer.com/slide/6632374/>
- [67] MUTTER, M. C., SMITH, T., MENZE, O., ZAKHARIA, M., NGUYEN, H. Diabetes Insipidus: Pathogenesis, Diagnosis, and Clinical Management [online]. Pathogenesis, Diagnosis, and Clinical Management, 2021. DOI:10.7759/Cureus.13523. [cit.2021-06-12]. Dostupné z: <https://www.cureus.com/articles/45123-diabetes-insipidus-pathogenesis-diagnosis-and-clinical-management>
- [68] ALHAJJ, M., FARHANA, A. Enzyme Linked Immunosorbent Assay Treasure [online]. Island: StatPearls Publishing, 2021. PMID:32310382. [cit.2021-05-11]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555922/>
- [69] AYDIN, S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA [online]. Peptides. 2015 Oct,7.(2) s.4-15. [cit.2021-05-11]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S019697811500131X?via%3Dihub>
- [70] KOHL, T. O., ASCOLI, C. A. Indirect Immunometric ELISA [online]. Cold Spring Harb Protoc., 2017. DOI:10.1101/PDA.prot093708. [cit.2021-05-11]. Dostupné z: <http://cshprotocols.cshlp.org/content/2017/5/pdb.prot093708.long>
- [71] GRANGE, D. R., THOMPSON, P.J., LAMBERT, G.D. radioimmunoassay, enzyme and non-enzyme-based immunoassays [online]. British journal of Anaesthesia, 2014, 112(2), s. 213-216. DOI:10.1093/bja/aet293. [cit.2021-05-11]. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0007091217319104?fbclid=IwAR3nMF2vcCZnGvJSN-WwpgGoBZ5ajdQc_tZ_Hy8Dgp2a4hRGhX_mHmj15Ds
- [72] BERSON, A. S., YALOW, S.R. General principles of radioimmunoassay [online]. Clinica Chimica Acta, 2006. 369(2), s 125-143. DOI:10.1016/j.cca.2006.05.002. [cit.2021-05-11]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898106002518?fbclid=IwAR2HiFPKeE4u1Unk7Q7xxhfAjDz6PSRyRlq72THeg3CEwBKyn5sY6JAvLW8>

[73] FAHIE-WILSON, M., SMITH, T.P. Determination of prolactin: the macroprolactin problem [online]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab., 2013. 27(5) s.725-742. DOI:10.1016/j.beem.2013.07.002. [cit.2021-04-05].

Dostupné z:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1521690X13001103?via%3Dihub>

[74] CINQUANTA, L., FONTANA, D. E., BIZZARO, N. Chemiluminescent immunoassay technology: what does it change in autoantibody detection? [online]. Auto Immun Highlights. 2017. DOI:10.1007/s13317-017-0097-2. [cit.2021-05-11].

Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5483212/>

[75] GARCIA, M.J., MERRIAM, R. G., KARGI, Y. A. Growth hormone in Aging Endotext [online]. South Dartmouth: MDText.com, 2000. PMID:25905386. [cit.2021-05-25]. Dostupné z:

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279163/?fbclid=IwAR120MaLHsA8uxKacDwriufvbM20U96gqQhu5Ib8NbMZ8TAVq1HJO0FAn_A

[76] CUNNINGHAM, M. J.M., BUXTON, M. O., WEISS, E. R. Circadian variation in Cushing's disease and pseudo-Cushing states by analysis of f and ACTH pulsatility [online]. Journal of endocrinological investigation, 2002. DOI:10.1007/BF03345514. [cit.2021-05-25]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF03345514>

[77] REED, G. B., CARR, R. B. The normal menstrual cycle and the control of ovulation [online]. South Dartmouth: MDText.com, 2000. PMID:25905282. [cit.2021-05-25].

Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279054/>

[78] PARK, Y.S., WALER, J. J., JOHNSON, W. N., ZHAO, Z., LIGHTMAN, L. S., SPIGA, F. Constant light disrupts the circadian rhythm of steroidogenic proteins in the rat adrenal gland. Molecular and cellular endocrinology, 2013. 371 (1-2), s. 114-123. DOI:10.1016/j.mce.2012.11.010. [cit.2021-06-12]. Dostupné z:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0303720712005023?dgcid=api_sd_search-api-endpoint

[79] YUEN, W. K., GARNER, P. J., CARSON, S. D., KELLER, J., LEMBKE, A., KELLER, J., HYDE, A. S., KENNG, A. H., TENNAKOON, L., SCHATZBERG, A., PARKER, J. K. Plasma oxytocin concentrations are lower in depressed vs. healthy control women and are independent of cortisol [online]. Journal of Psychiatric Research, 2014. DOI:10.1016/j.psychires.2013.12.012. [cit.2021-05-25]. Dostupné z:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022395613003877?fbclid=IwAR2h7k8v3SdbOPMeVgZfQuBjukpqJMok8WoN5BCNunNCT903w5l2IebjoJg>

[80] EVANS, J. M., LIVESEY, H. J., ELLIS, J. M., YANDLE, G. T. Effect of anticoagulants and storage temperatures on stability of plasma and serum hormones [online]. *Clinical Biochemistry*, 2001. 34 (2), s.107-112.

DOI:10.1016/S0009-9120(01)00196-5. [cit.2021-05-25].

Dostupné z:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009912001001965?fbclid=IwAR0mZLP7wZ4Z10dz568dYW9SEOmyeaSm2Nw-hDPuCNKjpFMHU7KHSQ043BY>

[81] PLUMELLEA, D., LOMBARDA, E., NICOLAYA, A., PORTUGAL, H. Influence of diet and sample collection time on 77 laboratory tests on healthy adults [online].

Clinical Biochemistry, 2014. 47(1-2), s. 31-37. DOI:10.1016/j.clinbiochem.2013.11.002

[cit.2021-05-25]. Dostupné z:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009912013005067?fbclid=IwAR0FWYQ7u6bprwfi3ttqLbVPpkOXmJGgAf25RN8iOG5VKr_xBCI8LIMOPQs