

HORMONY II

Druhá část textu věnovaná molekulám sloužícím dorozumívání mezi buňkami, především hormonům, jak je vymezuje klasická definice (viz kreditní kurz *Hormony I*).

O B S A H

HORMONY II.....	1
Hormony slinivky břišní.....	2
Diabetes mellitus.....	5
Metabolický syndrom.....	14
Hormony kůry nadledvin a pohlavních žláz.....	16
Hormony kůry nadledvin.....	19
Glukokortikoidy.....	19
Mineralokortikoidy.....	19
Pohlavní hormony.....	21
Androgeny.....	21
Estrogeny a gestageny (progestiny).....	22
Menstruační cyklus.....	24
Hormony dřeně nadledvin (katecholaminy).....	26
Tkáňové hormony.....	29
Cytokiny.....	30
Přehled hormonů (bez tkáňových) – shrnutí.....	32

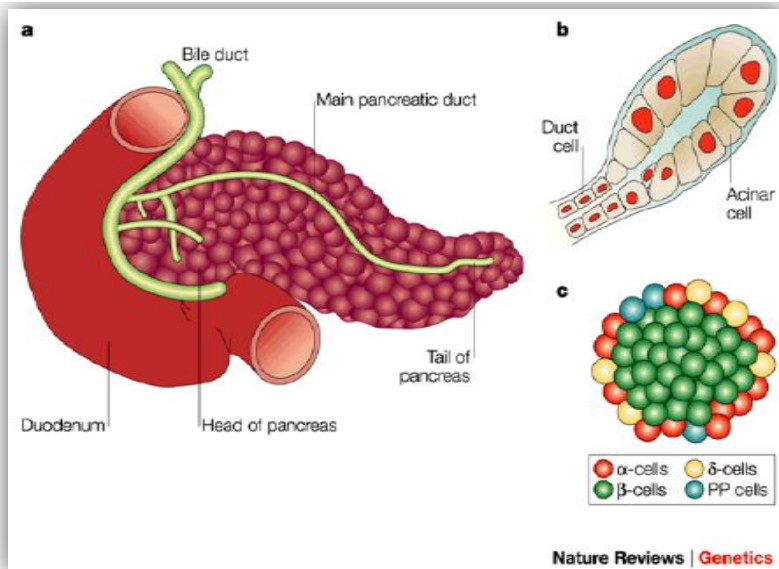
Hormony slinivky břišní

Inzulín – produkovaný β -buňkami (B-buňky) Langerhansových ostrůvků

Glukagon – produkovaný α -buňkami (A-buňky) Langerhansových ostrůvků

Somatostatin - produkovaný δ -buňkami (D-buňky) Langerhansových ostrůvků

Slinivka



Vysvětlivky:

duct = vývod, kanálek
tail = ocas, ohon, konec
bile = žluč
bile duct = žlučovod
main = hlavní
head = hlava

Inzulín

Charakteristika: peptid tvořený 51 aminokyselinami, molekulová hmotnost 5 733; tvoří oligomerní agregáty o 2, 6 či 8 molekulách, v závislosti na pH, teplotě a koncentraci Zn; způsob účinku je nejasný; na membráně je receptor ze 4 podjednotek ($2\alpha + 2\beta$), inzulín nevniká do buněk, ale působí prostřednictvím druhého přenašeče, jehož povaha je nejasná, pravděpodobně se jedná o několik přenašečů (cyklické nukleotidy – cAMP apod., H^+ , Ca^{2+} , fosfolipidy aj.); velmi pravděpodobně se jedná o komplexnější jev zahrnující i jiné prostředky přenosu, jako je fosforylace proteinů prostřednictvím kináz atd.

Množství inzulínu se vyjadřuje v *mezinárodních jednotkách*, a platí přibližné vztahy:

$1 \text{ mg inzulínu} \approx 25 \text{ U}$; $1 \text{ U} = 40 \mu\text{g} = 7 \text{ nmolů inzulínu}$

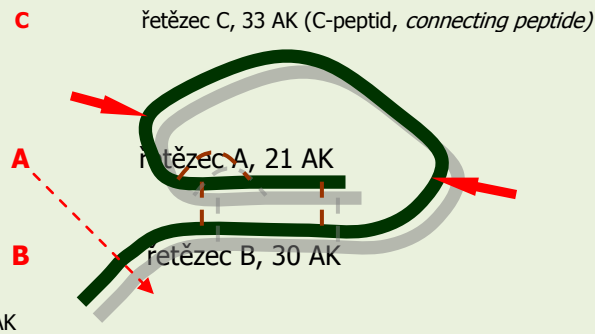
Syntéza

Ribozomy endopl. ret.

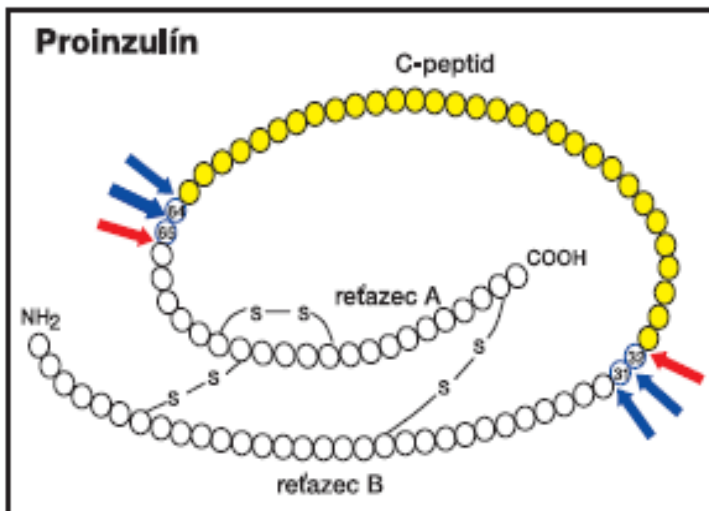
Golgiho aparát (β -granule)

preproinzulin (114 AK) $\xrightarrow{\text{specifická proteáza}}$ proinzulin (84 AK) $\xrightarrow{\text{specifická proteáza}}$ inzulín (51 AK)
- 30 AK - C-peptid

Struktura proinzulínu, inzulínu a C-peptidu



Na schematickém obrázku je znázorněn *proinzulín*, čárkovanou šipkou je naznačeno odštěpení 30 aminokyselin a vznik *proinzulínu*, ze kterého se odštěpí *peptid C* (C-peptid) a zbudou spojené části A a B, což je *inzulín*. V molekule jsou naznačeny intramolekulární vazby (disulfidové můstky – čárkovaně, na barevném obrázku hnědě)

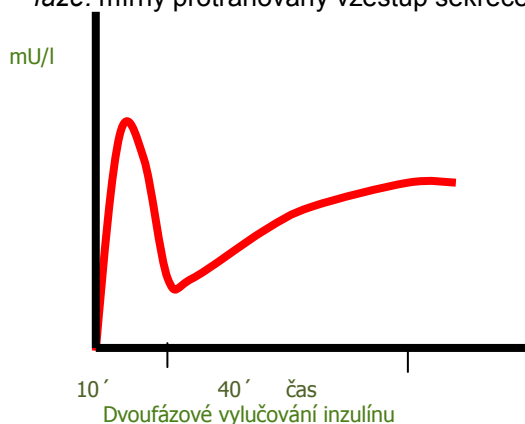


Obrázek vlevo ještě zřetelněji naznačuje štěpení proinzulínu: nejprve dvě konvertázy prohormonu PC2 a PC3 štěpí molekulu na místech označených červenými šipkami a potom karboxypeptidáza H odstraní po dvou bazických aminokyselinách (č. 31, 32 a 64, 65), jak naznačují modré šipky.

Obrázek je převzat z práce kolektivu autorů v jehož čele stál doc. MUDr Oliver Rácz z Košic, otištěné ve firemním časopise firmy Roche Labor Actuell č.2/2006: *C-peptid – marker inzulinové rezistence a fyziologicky významný hormon?*

Sekrece hormonu:

1. fáze: glukosa vyvolá silnou sekreci inzulínu, která je maximální po 1 – 2 minutách a pak rychle klesá; ionty Ca²⁺ zvyšují sekreci z β-granulí (zásobní forma)
2. fáze: mírný protražovaný vzestup sekrece (nový inzulín)



Řízení sekrece:

Hladina v krvi není určována syntézou hormonu, ale jeho sekrecí. Nejdůležitějším regulátorem je *hladina glukózy v extracelulárních tekutinách a obrat glukózy v β-buňkách*.

Sekreci inzulínu ovlivňují také tzv. *inkretiny*, což jsou hormony secernované střevními buňkami po *prandiálním* (tj. *stimulovaný jídlem*) podnětu. Inkretiny zasahují v prospěch nižší spotřeby inzulínu. Terapie založená na využití inkretinů vychází zejména z *GLP1*, což je *glukagon-like peptid* (glukagonu podobný peptid), odpovědný za více než 60% *inkretinového efektu*. Biologický poločas inkretinů je velmi krátký.

Regulační okruh:

↓ hladiny glukózy ⇒ ↓ sekrece inzulínu

↑ hladiny glukózy ⇒ ↑ sekrece inzulínu

Celý tento okruh je podstatně složitější, účastní se v něm další hormony (glukagon, adrenalin, kortisol), některé metabolity a aminokyseliny (srovnej schéma na str. 14).

Antagonisté inzulínu jsou

- glukagon
- adrenalin
- kortisol

Inzulín se z 50 – 60% zachytává v játrech, C-peptid játry vychytáván není. Poločas inzulínu je 5 – 10'.

Účinky:

Inzulín je *ústřední regulační hormon* veškerého intermediárního metabolismu, kde zasahuje na četných místech: reguluje metabolismus sacharidů, spolupůsobí při řízení metabolismu tuků a proteinů. Jeho úplný nedostatek po delší dobu je s životem neslučitelný.

Společný princip účinku inzulínu na metabolismus

1. Podporuje syntézu zásobních látek
2. Podporuje využití glukózy v periferních orgánech (tzn., že „hypoglykemizuje“).

Klinické poznámky**↓ Nedostatek inzulínu**

Porucha produkce a sekrece inzulínu je základním rysem patogeneze při nejčastějším endokrinním onemocnění – při *diabetu mellitu* (viz dále). Nedostatek inzulínu může být *absolutní* (nedostatečná sekrece) nebo *relativní*.

Příčiny relativního nedostatku inzulínu:

1. abnormální produkty sekrece buněk β (abnormální inzulín, neúplná přeměna proinzulinu na inzulín)
2. obíhající antagonisté inzulínu (zvýšená koncentrace protiinzulinových hormonů, protilátky proti endogennímu inzulínu, protilátky proti inzulínovým receptorům)
3. porucha v cílovém orgánu (receptorová porucha, postreceptorová porucha)

↑ Hyperinzulinismus

- *Relativní* - slabší odpověď receptorů inzulínu na inzulín (*inzulinová resistance*), výsledkem je relativní hyperglykémie následovaná nadměrnou sekrecí inzulínu v pankreatu
- *Způsobený nádory* (inzulinomy), produkujícími inzulín, adenomy či karcinomy β–buněk
- *Způsobený zvýšenou citlivostí β-buněk k fyziologickým stimulacím sekrece*
- *Umělý*, příčinou je předávkování inzulínu nebo orálních antidiabetik

Metody stanovení

Nejčastěji se stanovení inzulínu provádí imunochemicky, proto se někdy užívá označení *IRI* (*imunoreaktivní inzulín*). Stanovení inzulínu ligandovými technikami je možné na mnoha imunochemických analyzátoch. Stanovení inzulínu však nepatří mezi častá rutinní vyšetření.

Stanovení C-peptidu:

C-peptid není vychytáván játry. Hladina C-peptidu v periferní krvi je *mírou endogenní sekrece inzulínu*, protože v injekčně podaném inzulínu C-peptid není. Při poklesu glomerulární filtrace je však molekula C-peptidu v krvi zadržována. Stanovuje se imunochemicky (např. na různých imunochemických analyzátoch, ale i jinými technikami – ELISA apod.).

Diabetes mellitus

je skupina metabolických chorob, charakteristická hyperglykemií, jejíž příčinou je defekt *produkce* nebo *účinku inzulínu*, nebo *obojí*. Akutní a především chronická hyperglykémie je spojena s dysfunkcí a selháním řady orgánů, zvláště očí, ledvin, nervového systému a cév. Deficit inzulínu (absolutní či relativní) vede k abnormalitám v metabolismu tuků, cukrů i bílkovin. Hyperglykémie může vést ke glykosurii. Odpadá útlum lipolýzy, tzn., že se uvolňuje velké množství mastných kyselin, vznikají ve velké míře ketolátky což vede k metabolické acidóze (tzv. ketóza); volné mastné kyseliny se ukládají ve formě triacylglycerolů v játrech - steatóza jater.

Střední přežívání pacienta po stanovení diagnózy je u DM 1. typu (viz dál) kolem 36 roků, průměrný věk úmrtí je asi 49 let. Diabetici 1. i 2. typu umírají na komplikace způsobené cukrovkou (např. aterosklerózu - DM 2. typu). Děti diabetiček trpí častěji vrozenými vývojovými vadami. Diabetická nefropatie je jednou z nejčastějších příčin renální insuficience.

Příčiny diabetu (DM)

- nedostatek inzulínu (typ 1)
- snížení počtu funkčních receptorů pro inzulín (typ 2)
- pokles afinity inzulínových receptorů (např. při acidóze nebo nadměrné nabídce glukokortikoidů)
- převaha hyperglykemizujících hormonů (glukagon, STH)

Nová klasifikace DM:

- Diabetes mellitus 1. typu
- Diabetes mellitus 2. typu
- Gestační diabetes
- Sekundární diabetes

Většinu případů onemocnění DM patří buď k DM1 nebo k DM2:

Diabetes mellitus 1. typu (DM1)

Příčina: defekt tvorby inzulínu vyvolaný postupnou destrukcí β -buněk Langerhansových ostrůvků, jehož původcem je autoimunní proces, vyprovokovaný snad virovým onemocněním či chemickou modifikací těchto buněk u jedinců s genetickou predispozicí; svou roli hrají i volné radikály, resp. reaktivní formy kyslíku; existuje i určitá vazba na HLA genotypy; nemocní mají sklon k rozvoji ketoacidózy; pomalu se rozvíjející DM 1. typu v dospělosti bývá označován *LADA (latent autoimmune diabetes of adults)*. Z hlediska laboratorní medicíny přichází v těchto fázích na řadu (a je užitečné) vyšetření protilátek proti inzulínu, receptorům, ostrůvkům atd. (antiGAD, IRI, IA atd...).

Diabetes mellitus 2. typu (DM2)

Do této skupiny patří 90% diabetiků, postižení bývají obvykle starší lidé, často obézní; tato forma choroby je daleko více dědičně závislá než předchozí (familiární výskyt).

Příčina:

- relativní nedostatek inzulínu např. u obézních lidí
- snížená odpověď β -buněk pankreatu na hyperglykémii

Gestační diabetes mellitus (GDM)

Diabetes, který se projevil v průběhu gravidity; může vážně ohrozit plod. Gestační diabetes je definován jako jakýkoli stupeň intolerance sacharidů vznikající poprvé v průběhu gravidity. Nejčastěji se projevuje mezi 26. – 28. týdnem gravidity a po porodu odeznívá. Pokud ovšem nedojde k jeho včasné diagnostice a léčbě, může mít závažné krátkodobé i dlouhodobé následky pro matku i dítě. Gestační diabetes se dále dělí na několi subtypů.

Celosvětově existuje nejednotnost v názorech na diagnostické testy. Vesměs se používají zátěžové testy (oGTT) s různými koncentracemi glukózy: 50g (O'Sullivanův test), 75 g (ČR), 100 g (běžné v USA), případně se používá tzv. MMTT (Velká Británie), tj. toleranční test se smíšenou stravou (*Mixed Meal Tolerance Test*) o energetickém obsahu 400 kcal. Tento test je pacientkami lépe snášen než zátěžové testy s glukózou. V současnosti doporučovaný test vychází z konsensu přijatém na 4. mezinárodním kongresu GDM v roce 2006: gestační diabetes se prokazuje provedením zátěžového testu s definovaným množstvím glukózy (75 g) a vyšetřením hladiny glykémie v první nebo druhé hodině po požití glukózy. Zátěžové testy se provádějí podle toho, v jakém je žena riziku vzniku GDM. Toto riziko je rozděleno do tří úrovní, přičemž ženy bez rizika se nevyšetřují vůbec, ženy s průměrným rizikem jsou vyšetřovány ve 24. – 28. týdnu gravidity. U žen s vysokým rizikem GDM se doporučuje provádět zátěžové testy v počátku těhotenství (16. – 18. týden gravidity), v případě negativního výsledku se testy opakují mezi 24. – 28. týdnem gravidity.

V České republice se provádí screening GDM u věch těhotných žen jednostuňovým oGTT. Posuzuje se lačná glykémie a glykémie ve 120 minutách po zátěži (75 g glukózy).

Sekundární diabetes

Do této skupiny se řadí diabetes doprovázející definovaná onemocnění genetická, endokrinní, zánětlivá, vyvolaný podáváním léků apod.

Hraniční glukóza nalačno

Porucha je charakterizována jako bazální glykémie mezi 5,6 - 7,0 mmol/l (IFG = Impaired Fast Glukose)

Poznámka: označení fP-glukosa značí „glukosa stanovená z plazmy pacienta, který nejedl určitou dobu, lačnil“ – viz „Stanovení diagnózy z hodnoty glykémie (FPG)“; f = fast = nalačno.

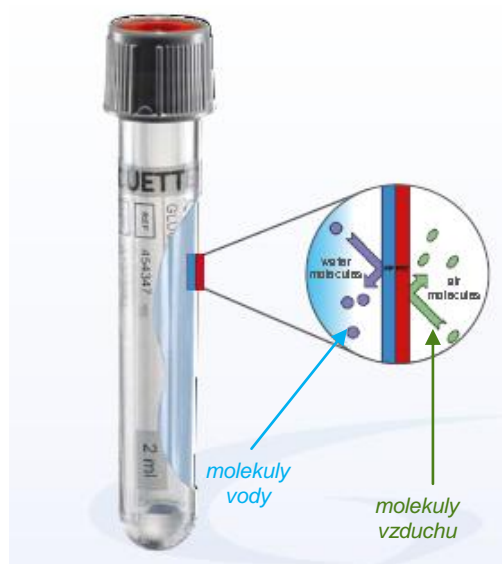
Laboratorní diagnostika diabetu a sledování stavu diabetu mellitu

Cíle, kterých chce na základě laboratorních výsledků laboratorní diagnostika dosáhnout	Hlavní prostředky
Určit diagnózu diabetu	Stanovení glykémie z plazmy na lačno (FPG = Fasting Plasma Glukose) Orální glukózový toleranční test
Vyhledat osoby se zvýšeným rizikem diabetu	Stanovení FPG
Sledovat průběh léčby diabetu	Stanovení hodnoty glykovaného hemoglobinu
Sledovat stav diabetiků	Sledování glykémie osobními glukometry
Včasně detekovat diabetickou nefropatii	Stanovení koncentrace albuminu v moči (mikroalbuminurie)

Stanovení diagnózy z hodnoty glykémie (FPG)

Odebírá se žilní krev po minimálně 8 hodinovém lačnění, s vyloučením fyzické námahy a kouření, pacient sedí. Používají se (komerční, barvou uzávěru identifikovatelné) odběrové nádoby s antiglykolytickou směsí (2,5 mg NaF/ml krve). Krev je nutno dopravit do laboratoře okamžitě. Plazmu je třeba od krevních elementů oddělit do 60 minut.

Novinkou v odběrových nádobkách je Vacuette® Glucomedics, která obsahuje směs sodné soli EDTA, fluoridu sodného, kyseliny citronové a citrátu sodného. Nádobka je dvouplášťová (výrobce Greiner Bio-One ji nazývá „sendvičovou“), vnitřní plášť je polypropylenový (PP) a zabraňuje odpařování aditiva, vnější plášť je polyethylentereftalátový (PET), důležitý pro udržení vakua. U této odběrové nádoby výrobce garantuje **100% obsah glukózy po dobu 48 hodin**, bez počátečního poklesu o cca 5% v prvních asi 5 hodinách jak je obvyklé o běžných nádobek s antiglykolytickou směsí.



Výsledky se hodnotí takto:

Hodnocení	FPG
vyloučení DM	<5,6 mmol/l
zvýšená FPG (IFG, prediabetes)	≥ 5,6 mmol/l až <7,0 mmol/l
DM	≥7,0 mmol/l (opakovaně)

Glukózový orální toleranční test (oGTT):

Je-li hodnota glykémie mezi 5,6 - 7,0 mmol/l provádí se pro upřesnění diagnózy jako doplňující vyšetření tzv. *orální glukózový toleranční test* (GTT). Testem se hodnotí, jak organismus umí udržet glykémii po standardní dávce glukózy (75 g). Tento test se používá k diagnóze gestačního DM. Používá se také v některých jiných případech (např. u jedinců se zvýšeným rizikem DM aj.)

Provedení testu:

Pacient před pokusem jí 3 dny stravu bohatou na sacharidy (minimálně 150 g/den), fyzicky se neomezuje. Před odběrem lační 8 – 14 hodin. Odebere se krev nalačno (1. odběr), pak se podá glukóza rozpuštěná v 300 ml vody během 5 – 10 minut a odebere se krev za 2 hodiny (2. odběr). Pacient během testu nejí, nepije, nekouří, nevykonává žádnou fyzicky náročnou činnost.

Hodnocení testu:

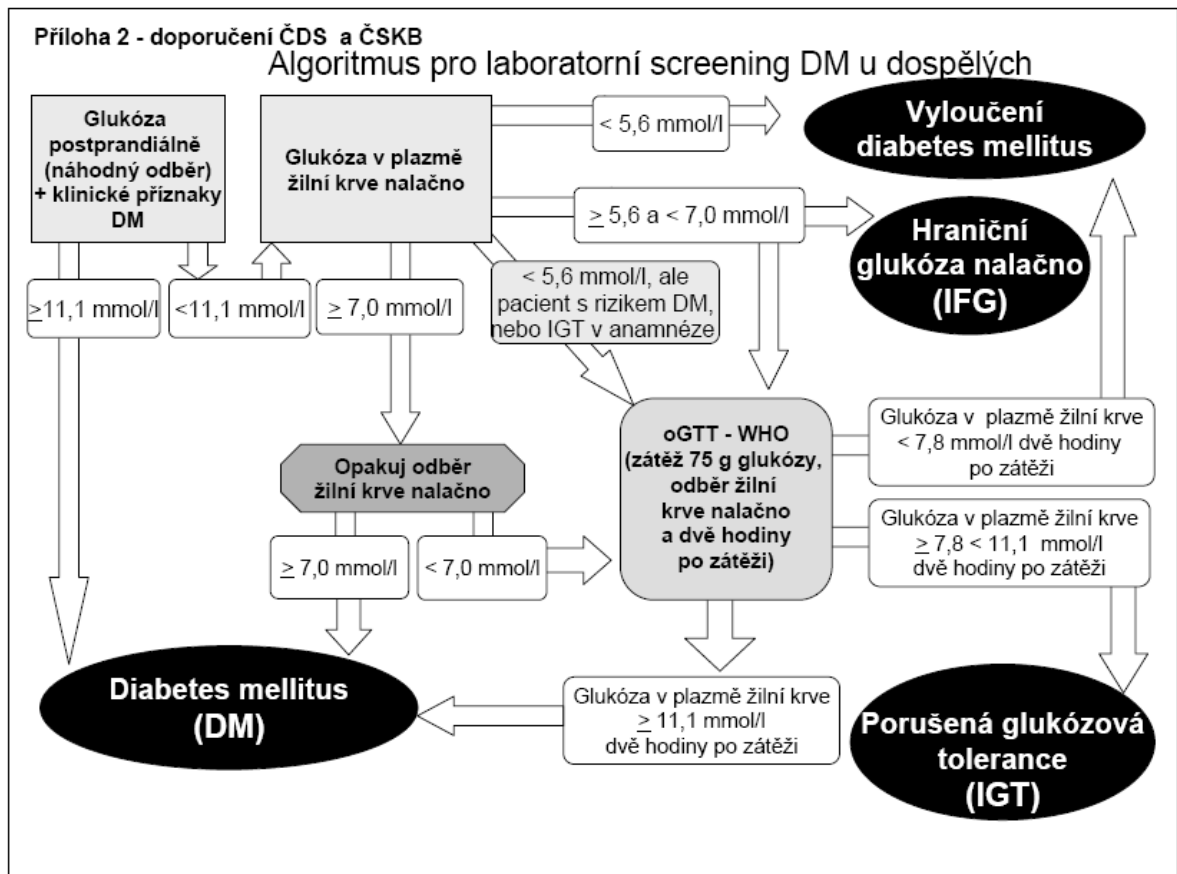
Hodnocení	Koncentrace glukózy v 2. odběru
vyloučení DM	<7,8 mmol/l
porušená glukózová tolerance (IGT)	≥ 7,8 mmol/l až <11,1 mmol/l
DM	≥11,1 mmol/l (opakovaně)

Poznámka: IGT = Impaired Glukose Toleration (impaired = zhoršený, snížený, poškozený, porušený, narušený)

Gestační diabetes mellitus je laboratorně diagnostikován tehdy, je-li FPG ≥ 5,6 mmol/l a/nebo (tj. stačí splnění jednoho kritéria) koncentrace plazmatické glukózy po 2 hodinách (2. odběr) v oGTT ≥ 7,7 mmol/l. Jiné zdroje uvádějí hodnoty FPG ≥ 5,3 mmol/l (platné pro USA) a oGTT ≥ 7,8 mmol/l (ve 120. minutě).

Schéma doporučeného algoritmu pro laboratorní screening DM u dospělých.

Podrobnosti dále v textu.



Sledování stavu DM

Krátkodobá kompenzace diabetu

Jednorázová glykémie

Určuje momentální hladinu glukózy v krvi. Provádí se v akutních stavech (očekává se hyper- nebo hypoglykémie), na výsledek se reaguje adekvátní terapií. Často se toto vyšetření provádí přímo u lůžka (bed-side diagnostics, POCT) nebo si ho provádí diabetik sám (selfmonitoring), obojí pomocí glukometrů (objektivní hodnocení diagnostických proužků či jiný princip).

Glukóza v krvi (glykémie) stanovená glukometry

Koncentrace glukózy v kapilární krvi, stanovená pomocí osobního glukometru je nástrojem sledování stavu všech diabetiků závislých na insulinu (diabetes 1. typu) a některých vybraných skupin diabetiků 2. typu. Používá se ke sledování stavu diabetika v režimu POCT nebo jeho sebesledování, tj. v domácím použití.

Glykemický profil

Opakované vyšetření glykémie několikrát denně *nalačno a po jídle*, případně ve 2 hod v noci

- glykemický profil *malý* – 5 odběrů denně
- glykemický profil *velký* – 9 odběrů denně.

Většinou se nejedná o akutní vyšetření, krev se odebírá do konzervačního činidla (chelaton 3 a NaF) a vzorky je možno zpracovat najednou; vyšetření slouží lékařům k terapii (dávkování a typ inzulínu – s krátkou, střední nebo dlouhou dobou účinku).

Glykosurie

Má význam pro určení denních ztrát glukózy močí. Spolu se vzorkem je laboratoři dodána i hodnota diurézy za čas (obvykle za 24 hod).

Stanovení glykosurie nepatří mezi základní nástroje diagnózy DM ani sledování jeho stavu. Může sloužit jako velmi nedokonalá náhražka odhadu glykémie, ale pouze výjimečně u pacientů, kteří nejsou schopni či ochotni pracovat s osobními glukometry. *Současné hodnocení významu tohoto stanovení je nízké.* Spíše má význam stanovení ketolátů v moči, které se využívá poměrně často i v domácích podmínkách.

Dlouhodobá kompenzace diabetu

Glykované proteiny

Nejsou vhodné pro diagnostiku diabetes mellitus, ale jsou vhodné ke sledování (monitorování) hladiny glukózy za delší období u osob s diabetem. Jejich pomocí lze zjistit průměrnou glykémii za určité období a posoudit dietologickou kázeň pacienta za období uplynulé od poslední návštěvy diabetologa (pacienti mívají tendenci porušovat zásady diety a dodržovat je pouze bezprostředně před návštěvou lékaře).

Glykace je neenzymatická adice cukerného zbytku na proteinové aminoskupiny; rychlost glykace je dána koncentrací reagujících složek; protože koncentrace bílkovin v krvi je v podstatě konstantní, závisí výsledek na koncentraci glukózy v krvi. V první fázi vzniká kondenzační produkt, reakce je vratná a po odeznění přechodné hyperglykémie se glukóza z vazby zase uvolní. Při dlouhodobé hyperglykémii dochází k intramolekulárnímu přesmyku a vzniká *ketoamin* (tzv. *Amadoriho produkt*), který je derivátem fruktozaminu. Reakce je nevratná, molekula cukru zůstává navázána na molekulu bílkoviny po celou dobu její existence. Stanovení glykovaného podílu hlavních krevních bílkovin umožňuje posoudit stav dlouhodobé kompenzace diabetika, tj. průměrnou glykémii za delší časové období.

Glykovaný protein (glykované proteiny, fruktozamin, fruktozaminový test, glykovaný albumin)

Fruktozamin je název zavedený pro plasmatické proteinové ketoaminy, které se tvoří glykací aminoskupin plasmatických i jiných proteinů. Tyto proteiny (např. sérový albumin) mají podstatně rychlejší obrat než glykovaný hemoglobin, mohou tedy odrážet hladinu krevní glukózy za poslední 2 - 3 týdny. Stanovení fruktozaminu je rovněž užitečné u některých hematologických onemocnění, kdy délka přežívání erytrocytů je zkrácena a nelze proto použít stanovení glykovaného hemoglobinu (viz dále).

Metody stanovení:

Fotometrická metoda s *nitrotetrazoliovou modří* (*nitrotetrazolium blue, NTB*) v uhličitanovém pufru, při 540 nm.

Referenční interval hodnot: touto metodou je 1,4 – 1,9 mmol/l

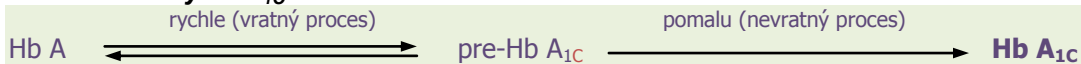
V současné době se toto stanovení již nedoporučuje a mělo by být nahrazeno stanovením glykovaného hemoglobinu.

Glykovaný hemoglobin (glykohemoglobin). Hemoglobin dospělého člověka je tvořen z 97% hemoglobinem A, z 2,5% hemoglobinem A₂ a z 0,5% hemoglobinem F. Rovněž podléhá glykaci a vznikají tři deriváty označované jako HbA_{1A}, HbA_{1B} a HbA_{1C}, které se souhrnně nazývají hemoglobin A₁, rychlé hemoglobiny (protože při elfo putují značně rychleji než HbA), glykohemoglobiny nebo glykované hemoglobiny. Vlastním stabilním ketoaminem je frakce **HbA_{1C}**:

Hb dospělého člověka = **HbA** (97%) + **HbA₂** (2,5%) + **HbF** (0,5%)
 Glykovaný HbA = **HbA₁** (HbA + hexóza = HbA₁)
HbA = **HbA₁** platí: **HbA₁** = **HbA_{1A}** + **HbA_{1B}** + **HbA_{1C}**
 (100%) (..... 20%) (80%)

Hemoglobin A_{1C} se tvoří kondenzací glukosy s N-terminálním valinem každého beta-řetězce hemoglobinu A. Je to hlavní frakce, představující přibližně 80% hemoglobinu A₁.

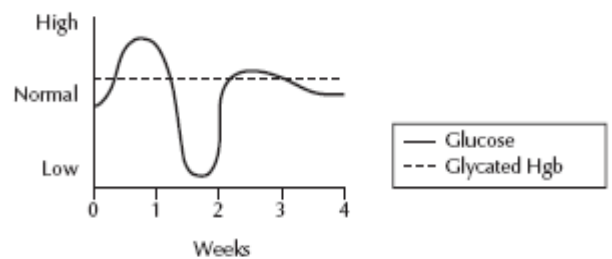
Schéma tvorby HbA_{1C}



Hladina glykovaného hemoglobinu v krvi závisí na délce života erytrocytů (průměr 120 dní) a na koncentraci krevní glukózy. Množství Hb A₁ (nebo Hb A_{1C}) tak představuje hodnoty průměrné glykémie za posledních 6 - 8 týdnů a je dodatkovým kritériem kontroly glykémie. Glykovaný Hb by se měl rutinně kontrolovat každé 3 - 4 měsíce. V některých případech (gravidita) je užitečná častější kontrola (2-4 týdny).

Podíl látkové koncentrace HbA_{1C} na celkovém

hemoglobinu krve je považován za rutinní a nejvíce efektivní nástroj sledování průběhu DM. Představuje nejlepší způsob kontroly koncentrací glukózy u diabetiků, neboť je považován za její vážený dlouhodobý průměr.



high = vysoký, normal = normální, low = nízký
 weeks = týdny

Metody stanovení

1. *Separace založená na rozdílech v náboji* (iontově výměnná chromatografie, HPLC, elektroforéza, elektrofozace)
2. *Chemická analýza* (fotometrie, spektrofotometrie)
3. *Separace založená na strukturálních rozdílnostech* (afinitní chromatografie, imunostanovení)

V laboratorní praxi se používají stanovení glykovaného hemoglobinu

1. *Imunochemická, se specifickou protilátkou*

(např. na analyzátoru IMx firmy Abbott, kde se stanovuje HbA₁ a výpočtem se získává hodnota HbA_{1C}, diagnostická souprava firmy Olympus aj.)

2. *Katexová chromatografie*

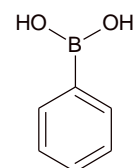
Stanovení na základě rozdílných nábojů (např. automat DS5 firmy Drew [Anglie], který pracuje na principu katexové chromatografie v kombinaci s gradientovou elucí a fotometrií a stanovuje HbA_{1C}, dále HPLC automat D-10 firmy Bio-Rad aj.)

3. *Elektroforéza*

Stejný princip jak ad 2.

4. *Boronátová afinitní chromatografie*

Odděluje glykované hemoglobiny od neglykovaných kondenzací na pevné fázi dihydroxyboronátu s cis-dioly přítomnými v cukerné složce glykovaných hemoglobinů (automat PDQ firmy Primus Corporation, USA)



dihydroxyboronát

Referenční interval hodnot

Hodnoty glykovaného hemoglobinu se **vyjadřovaly** v procentech celkového hemoglobinu.

Referenční interval pro HbA_{1C} byla 2,8 – 4,0% z celkového hemoglobinu

(při kalibraci metody podle požadavků IFCC, tj. kalibrace na referenční materiály IVCC/IRMM 466 a 467).

Hodnocení kompenzace diabetu na základě stanovení HbA_{1c}

HbA _{1c}	Kompenzace diabetu
<4,5%	výborná
4,5 – 6,0%	uspokojivá
>6,0%	neuspokojivá

(hodnoty v tabulce platí od 1. ledna 2004 při kalibraci podle požadavků IFCC)

Stanovení koncentrace HbA_{1c} v krvi je považováno za rutinní a nejvíce efektivní nástroj sledování průběhu diabetu mellitus. Naměřenou hodnotu je možno použít v rámci screeningu poruch glukózové homeostázy, zejména ve vztahu k prediabetu.

Interference:

HbF<15%, HbC a heterozygotní HbS neinterferují při stanovení metodou ionexové HPLC. Varianty HbE, HbD, Hb Fukuoka, Hb Philadelphia a Hb Raleigh mohou s touto metodou interferovat. V těchto případech se doporučuje použít *boronátovou afinitní metodu* (např. přístroj *in2it™ A1C*).

Analyzátoary glykovaného hemoglobinu



Analyzátoar *in2it™ A1C*



Testovací cartridge
pro Analyzátoar *in2it™ A1C*



Analyzátoar *D-10*

Nové přístupy

V červnu 2004 se sešly diabetologické společnosti ADA (americká), EASD (evropská) a IDF (mezinárodní) na společném zasedání, na kterém akceptovaly kalibraci podle IFCC a usnesly se, že v blízké budoucnosti (horizont 2 – 4 let) bude glykovaný hemoglobin používán nejen k dlouhodobému sledování kompenzace diabetu, ale i k jeho **diagnostikování** (což je v rozporu s dosavadním pojmáním tohoto vyšetření – viz odstavec výš).

Prozatímní návrhy na název tohoto vyšetření

- průměr stanovení sérové glukózy
- velikost rizika diabetu
- mmol HbA_{1c}/mol Hb

Poslední doporučení IFCC se týkají změny názvu a jednotky stanovení HbA_{1c}:

- název *DOF hemoglobin*, zkráceně deoxyfruktosyl hemoglobin, protože vlastní komponentou je N-(1-deoxyfructos-1-yl) hemoglobin beta chain (řetězec), systémem je hemoglobin; tento název se doporučuje používat pouze pro referenční měření, pro rutinní měření zůstává zachován název HbA_{1c}, resp. HbA1c
- druh veličiny *látkový podíl*, jednotka *mmol/mol*
- pojetí HbA_{1c} jako vyjádření průměrné hodnoty glykémie za dobu několika měsíců nebylo akceptováno.

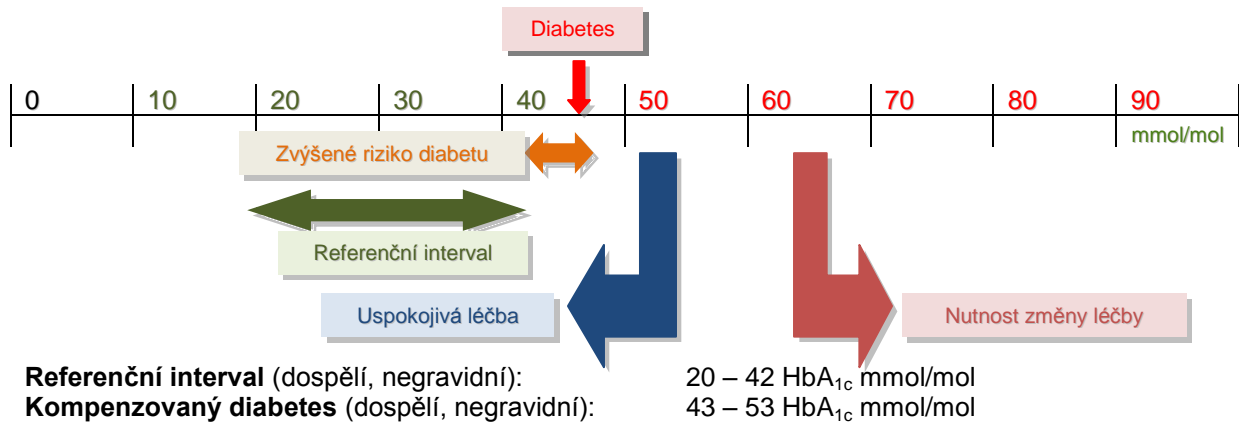
Výsledky by měly být udávány v celých číslech.

Příklad: např. dosavadních 4,8% je podle nového doporučení 48 mmol/mol; číselné hodnoty v tabulce na str. 14-24 se převedou na hodnoty v mmol/mol vynásobením deseti).

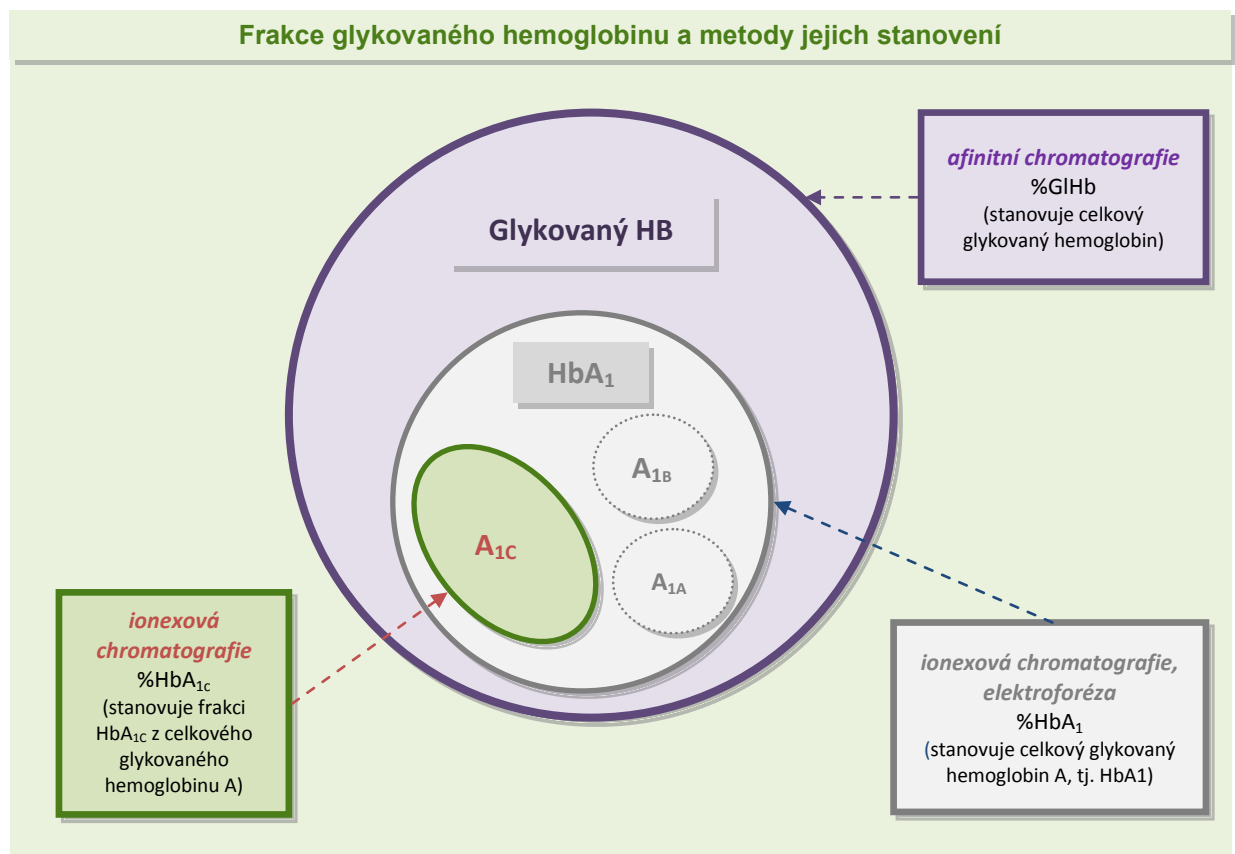
Od 1. ledna 2012 se připouští vyjadřování výsledků měření glykovaného hemoglobinu jen v jednotkách mmol glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} na mol celkového hemoglobinu (mmol/mol).

Hodnocení kompenzace diabetu na základě stanovení HbA_{1c} s novými jednotkami

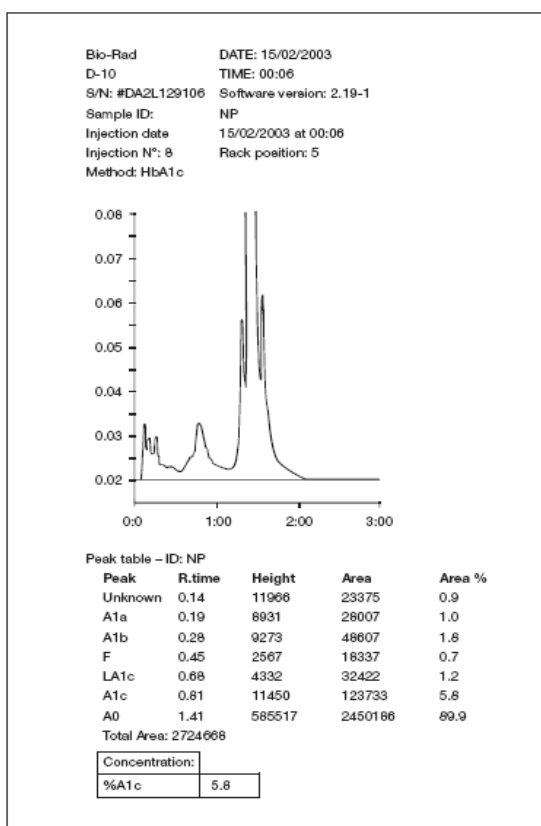
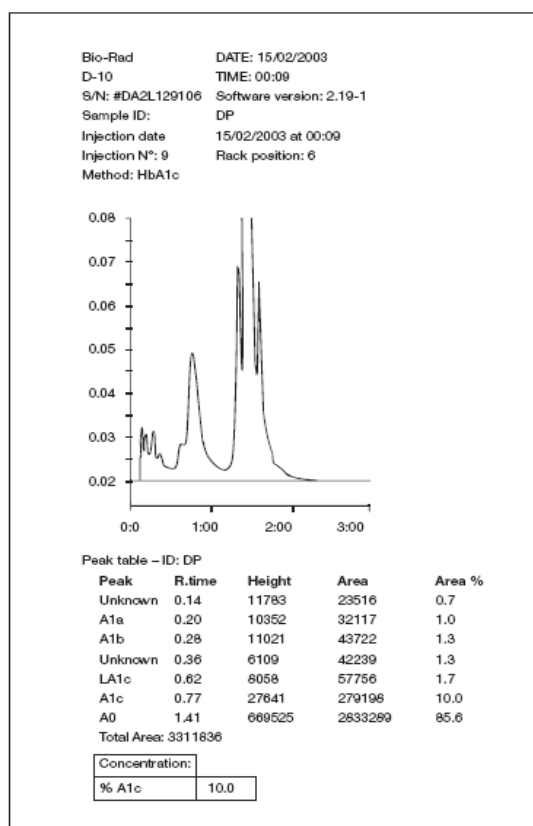
	Referenční interval	Zvýšené riziko diabetu	Diabetes	Uspokojivá léčba	Nutnost změny léčby	Nediabetici
mmol/mol	20 – 42	42 – 47	≥ 47	< 53	> 64	< 42



Frakce glykovaného hemoglobinu a metody jejich stanovení



Ukázka výstupních chromatogramů z HPLC automatu D-10 fy Bio-Rad

D-10 HbA_{1c} Result: Normal Patient ChromatogramD-10 HbA_{1c} Result: Diabetic Patient Chromatogram

Další stanovení indikovaná při DM

Stanovení proinzulínu se považuje za *ukazatel inzulinorezistence*

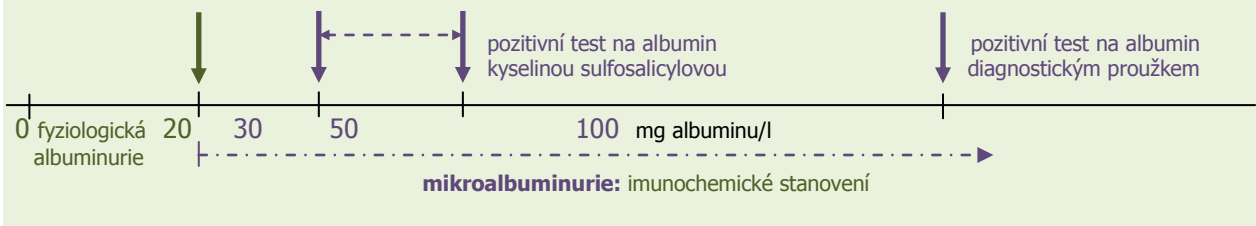
Stanovení autoprotilátek (souvisejících s diabetem 1. typu) **proti**

- cytoplasmě ostrůvkových buněk (zkratka: ICA)
- dekarboxyláze kyseliny glutamové (zkratka: GADA)
- inzulínu (IAA)
- protilátek spojené s inzulinem-2 (zkratka: IA-2A)

Tyto protilátky jsou průvodním jevem destruktivní činnosti imunitního systému poškozující β -buňky pankreatu, nejsou příčinou diabetu, vyskytují se u 95% diabetiků 1. typu. Lze je zjistit v krvi měsíce až léta před rozvojem DM1. Tato vyšetření se provádějí u lidí s vysokým rizikem vzniku diabetu (familiární výskyt) a pro odlišení autoimunitního diabetu 1. typu od diabetu vzniklého z jiných příčin

Albumin v moči („mikroalbuminurie“)

Vzhledem k velikosti své molekuly se albumin dostává do primární moči i za fyziologického stavu. Většina profiltrovaného množství je však selektivně resorbována buňkami proximálního tubulu, při tom resorpční kapacita je i za fyziologických podmínek téměř saturována. Do definitivní moči se dostane maximálně 30 mg albuminu/l, avšak, vzhledem k uvedeným skutečnostem, již malé zvýšení nabídky albuminu vede k přetížení resorpčního děje a ke zvýšenému vylučování albuminu močí. Tomuto jevu se říká, poněkud nesprávně, *mikroalbuminurie*. Nesprávně proto, že se nejedná o vylučování *mikroalbuminu* močí, ale o *mikrovylučování*, čili vylučování malých množství albuminu močí. Zvýšená nabídka albuminu může být způsobena např. zvýšenou glomerulární filtrací, která bývá pozorována v počátečních fázích diabetu (diabetická nefropatie). Mikroalbuminurie u diabetika je považována za *první signál hrozícího poškození ledvin*. Při včasné zachytu zvýšených hodnot albuminu v moči lze u diabetika zlepšením kompenzace oddálit vznik mikroangiopatie včetně glomerulosklerózy. Stanovení koncentrace albuminu v moči slouží jako nástroj včasné detekce diabetické nefropatie. Totéž platí i pro hypertoniky.

Schéma mikroalbuminurie

Doporučené hodnocení bere v úvahu, kromě kvantitativního stanovení U-kreatininu v časovaném sběru moči i podíl U-albumin/U-kreatinin.

Vzorek		Referenční hodnoty	Mikroalbuminurie	Proteinurie
<i>Poměr albuminu a kreatininu v g/mol kreatininu</i>				
Náhodný vzorek	Muž	<2,5	2,5 až 30	>30
	Žena	<3,5	3,5 až 30	>30
<i>Albumin $\mu\text{g}/\text{min}$ (vylučování albuminu ledvinami)</i>				
Časovaný vzorek (sběr za 4 hodiny)		<20	20 až 200	>200
<i>Albumin mg/24 hod (vylučování albuminu ledvinami)</i>				
Sběr moči (24 hodin)		<30	30 až 300	>300

V případě pozitivního nálezu (výsledek měření je vyšší než rozhodovací mez), je možno diagnózu provést až po 3 opakovaných měřeních.

Metody stanovení albuminu v moči

Mikroalbuminurii nelze zjistit kyselinou sulfosalicylovou nebo diagnostickým proužkem, protože jejich citlivost je až od 30-50 mg albuminu/l, resp. cca 100 mg celkové bílkoviny/l. Běžně užívanou metodou je *turbidimetrie se specifickou protilátkou* proti lidskému albuminu, v prostředí PEG (protilátky firem DAKO, ORION aj.) Současné doporučení (IFCC) k formě vydávání výsledků je mg albuminu/mmol kreatininu, vzorek – první ranní moč.



HemoCue UrineAlbumin 201

Na trhu existují i specializované analyzátory pro stanovení albuminu v moči. Např. firma *Cheirón* dodává analyzátor *HemoCue UrineAlbumin 201* pro stanovení albuminu v kapce moči. Analyzátor používá speciální kyvety, které obsahují reagentie v suché formě. Další možností jsou diagnostické proužky, kde lze výsledek odečítat buď subjektivně, nebo pomocí přístroje. Na obrázku vpravo jsou proužky (stripy) ALMIKRO Plus od firmy *QUICK SEAL International s.r.o.*

**Glukagon**

Charakteristika: polypeptid složený z 29 aminokyselin; produkováný, jak bylo zmíněno, α -buňkami (A-buňky) Langerhansových ostrůvků

Tvorba:**Sekrece:**

Je vyvolána hypoglykemií, poklesem koncentrace aminokyselin a mastných kyselin v krvi (regulační okruh); dále zde působí *katecholaminy*, *pankreozymin* a *gastrin* (hormony zažívacího traktu).

Inaktivace: v játrech a ledvinách

Účinky (prostřednictvím cAMP):

Cílové orgány – játra a tuková tkáň

- glykogenolýza (v játrech, ne ve svalu)
- glukoneogeneze z laktátu, AK (z odbourání bílkovin) a z glycerolu
- ↑ lipolýzy (uvolnění glycerolu)

Stavy z nadbytku i nedostatku hormonu jsou mimořádně vzácné.

Metody stanovení glukagonu: Stanovení biologicky aktivního glukagonu se provádí imunochemicky po předchozí extrakci glukagonu etanolem.

Referenční interval hodnot: 100 – 650 ng/l

Somatostatin (SIH)

Somatostatin, tvořený δ -buňkami pankreatu, parakrinně tlumí uvolňování inzulínu a glukagonu (snižuje tak využití živin vstřebaných z trávicího ústrojí), tlumí motilitu a sekreci v trávicím ústrojí. Hraje snad úlohu "antiobézního" hormonu (tj. hormonu "proti otýlosti").

METABOLICKÝ SYNDROM

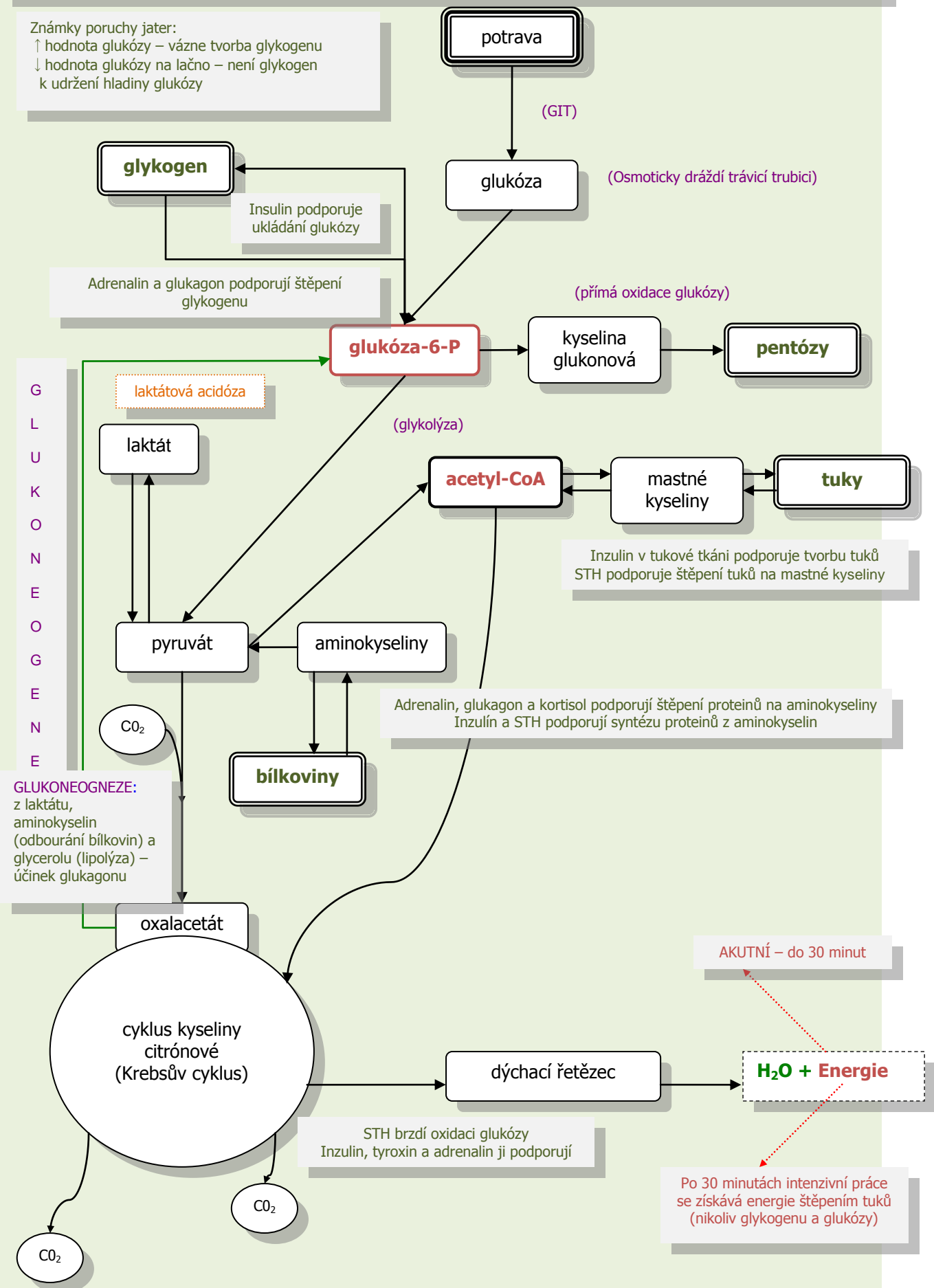
Definice metabolického syndromu vydaná Mezinárodní diabetologickou federací v dubnu 2005 (International Diabetes Federation – IDF):

Základním charakteristickým rysem metabolického syndromu je centrální obezita, která je pro Evropu a USA definována hodnotami ≥ 94 cm u mužů a ≥ 80 cm u žen a musí být přítomna vždy. K diagnóze metabolického syndromu je pak nutná přítomnost alespoň dvou z následujících poruch:

- zvýšená koncentrace triacylglycerolů ($\geq 1,7$ mmol/l)
- snížená koncentrace HDL-C ($\leq 1,0$ mmol/l u mužů; $\leq 1,3$ mmol/l u žen)
- krevní tlak ($\geq 130/85$ torr)
- hyperglykémie nalačno ($\geq 5,6$ mmol/l) nebo diagnostikovaný diabetes nebo zhoršená glukózová tolerance

Tyto osoby mají zvýšené riziko především diabetu a kardiovaskulárních chorob.

Principy metabolismu a regulace hladiny glukózy



Hormony nadledvin a pohlavních žláz

NADLEDVINA			
Kůra			Dřeň
Mineralokortikoidy	Glukokortikoidy	Pohlavní hormony	Katecholaminy
		Androgeny (19)	
		Estrogeny(18)	
		Gestageny (21)	

Poznámka: čísla v závorkách (a dále u vzorců výrazy 21C, 19C a 18C) vyjadřují počet atomů uhlíku v molekule

Hormony kůry nadledvin a pohlavních žláz

Charakteristika

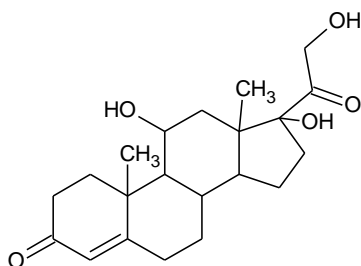
Jedná se o steroidní látky, v podstatě metabolity cholesterolu. Základem je 17 uhlíková struktura – *cyklopentanoperhydrofenantren* neboli *steran* – jednotlivé hormony se liší funkčními skupinami.



Cyklopentanoperhydrofenantren

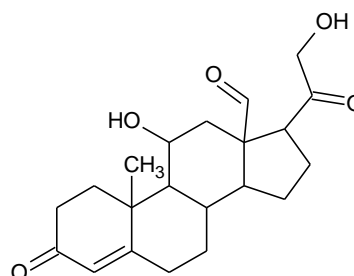
Tkáňe produkující steroidy mohou vytvářet větší počet steroidů, nejsou omezeny na tvorbu pouze jednoho typu. Speciální enzymová výbava způsobuje, že se „typické hormony“ tvoří a secernují (vylučují) v největším množství. Tyto hormony se prakticky neskladují, syntetizovaný hormon je ihned vyplaven. Estrogeny se od ostatních steroidních hormonů liší aromatickým prvním kruhem (viz šipky u vzorců).

Existují i *syntetické steroidní hormony*, užívající se jako léčiva s účinky *mineralokortikoidními*, *glukokortikoidními* a *protizánětlivými (antiflogistika)*.



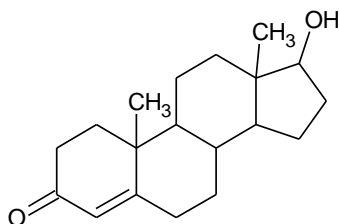
21C KORTIZOL

11β,17,21-trihydroxy-4-pregnen-3,20-dion



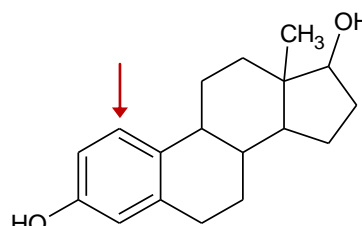
21C ALDOSTERON

11β,21-dihydroxy-3,20-dioxo-4-pregnen-18-al



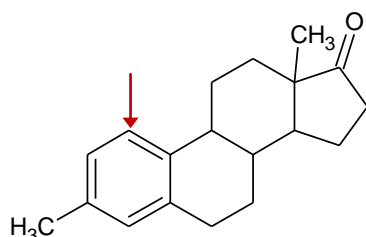
19C TESTOSTERON

17β-hydroxy-4-androsten-3-on



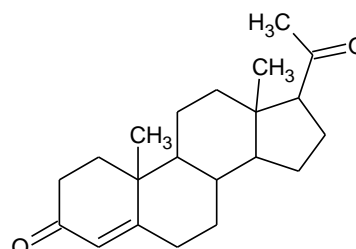
18C 17β-ESTRADIOL

1,3,5(10)-astratrien-3,17β-diol



18C ESTRON

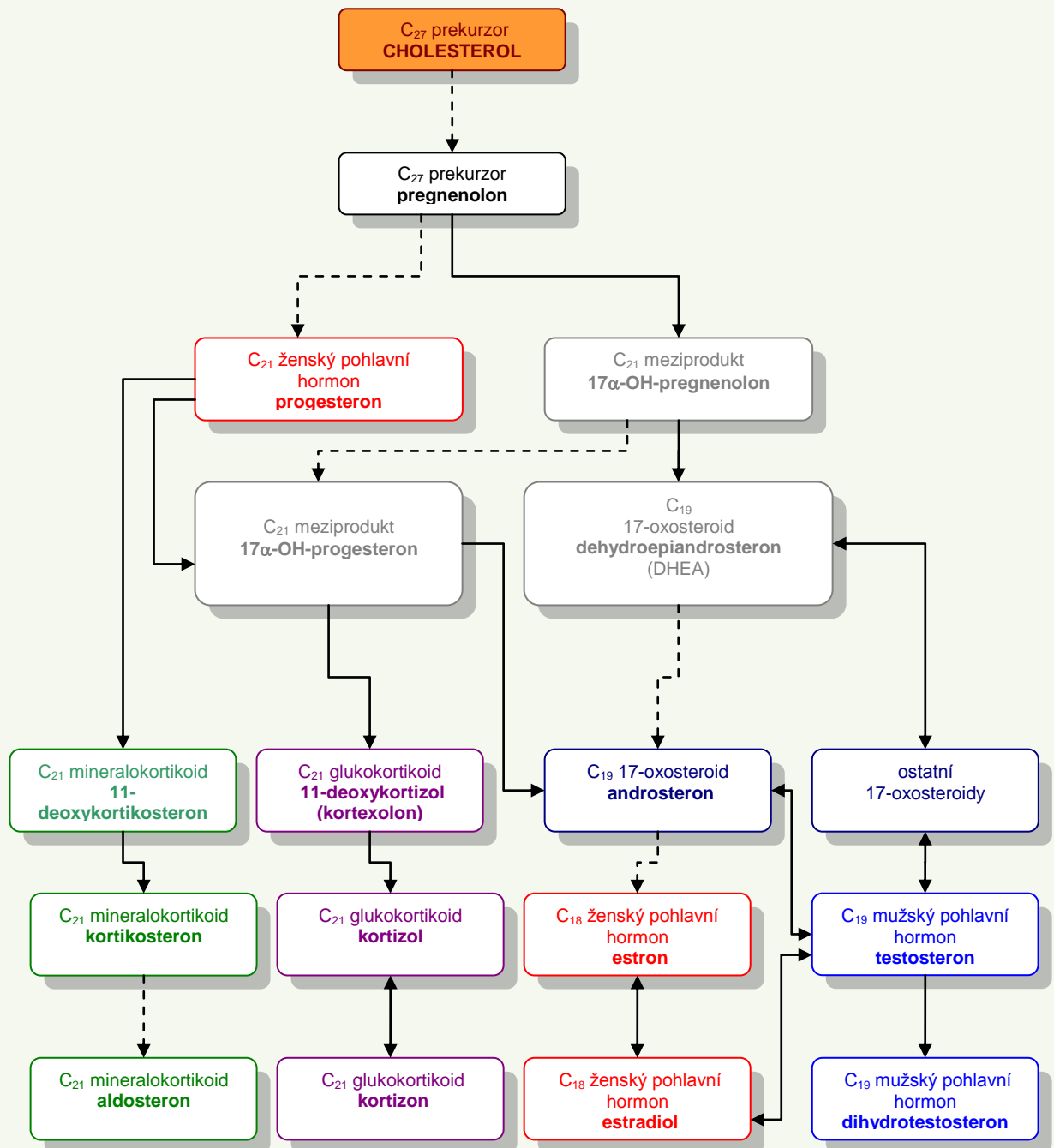
3-hydroxy-1,3,5(10)-estratrien-17-on



21C PROGESTERON

4-pregnen-3,20-dion

Biosyntéza steroidních hormonů



Vysvětlivky:

zelené písmo – mineralokortikoidy (kůra nadledvin)

fialové písmo – glukokortikoidy (kůra nadledvin)

modré písmo – mužské pohlavní hormony (varlata)

červené písmo – ženské pohlavní hormony (vaječníky)

tmavě modré písmo – 17-oxosteroidy (prekursory androgenů; konečná fáze v kůře nadledviny)

- - - - - metabolická cesta vede přes meziprodukty

(čísla ve schématu označují počet uhlíků u jednotlivých sloučenin)

Regulace sekrece:

S výjimkou aldosteronu se jedná o typickou regulaci systémem *hypotalamus-hypofýza*. Sekrece závisí na syntéze. Rychlost biosyntézy ovlivňují hormony hypofýzy (⇒ závislost produkce steroidních hormonů na hypofýze). Opačně, poruchy v oblasti hypofyzárních hormonů se projevují prostřednictvím podřízených steroidních hormonů.

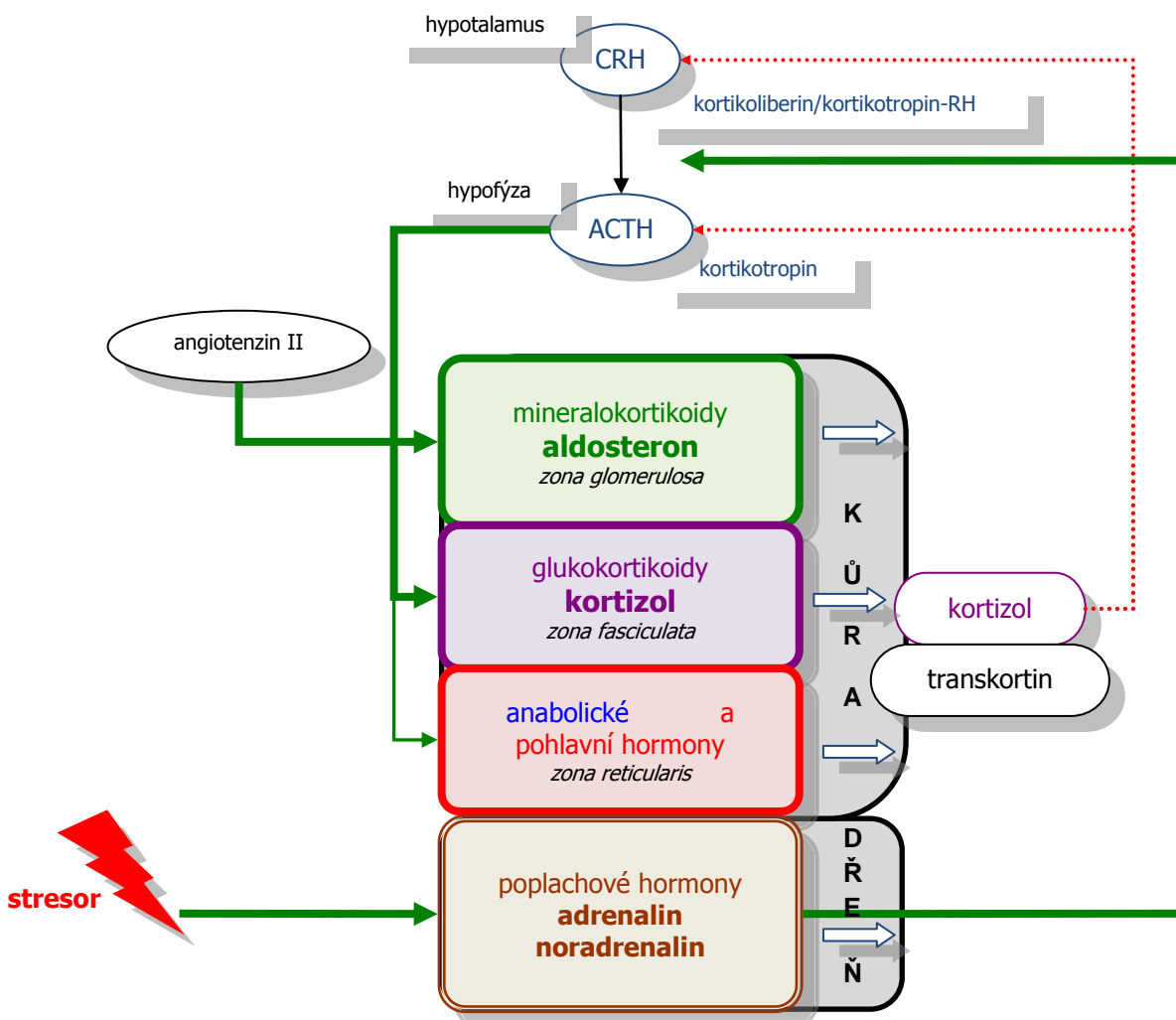
Inaktivace steroidních hormonů: S výjimkou estrogenů se steroidní hormony odbourávají v játrech, produkty degradace se konjugují s kyselinou glukuronovou či sírovou a vylučují se močí.

Způsob účinku: Indukce tvorby enzymů a jiných proteinů.

Principy metod stanovení steroidních hormonů:

1. chromatografie na tenké vrstvě
2. plynová chromatografie
3. HPLC
4. spektrofluorimetrie
5. ligandové techniky

Schéma tvorby hormonů v kůře a dřeni nadledvin a řízení jejich sekrece

**Vysvětlivky:**

- stimule tvorby, silou čáry je vyjádřena síla stimulace
- - - - -> negativní zpětná vazba
- uvolnění (sekrece) hormonu

Hormony kůry nadledvin

Hormony kůry nadledvin	
Glukokortikoidy	Mineralokortikoidy
Kortizol	Aldosteron
Kortizon	Kortikosteron
11-deoxykortizol	11-deoxykortikosteron

Určitou roli v patogenezi však hrají i androgeny.

Glukokortikoidy

Mají značně rozmanité účinky, mimo jiné ovlivňují:

- metabolismus sacharidů a aminokyselin
- srdce a krevní oběh (zesilují srdeční stah a působí periferní vazokonstrikci)
- v žaludku stimulují produkci žaludeční šťávy
- v ledvinách zpomalují vylučování vody a udržují normální glomerulární filtraci, ve velkých dávkách působí podobně jako aldosteron
- v mozku ve velkých dávkách způsobují změnu psychiky a EEG
- působí protizánětlivě a protialergicky (ve vyšších dávkách)

Kortizol

Řízení syntézy a sekrece: ACTH (adrenokortikotropní hormon, kortikotropin)

Transport:

- transkortin (speciální vazebný protein)
- albumin

Účinky:

Působí hyperglykemií, kladně ovlivňuje ukládání glykogenu, stimuluje glukoneogenesi z aminokyselin (antagonista inzulínu), podporuje štěpení proteinů, působí na játra (syntéza enzymů), v tukové tkáni vyvolává lipolýzu, v trávicím traktu snižuje využití glukózy, podílí se na distribuci vody ve tkáních a buňkách a na jejím vylučování ledvinami, má protizánětlivý účinek, snižuje tvorbu protilátek, podílí se na metabolismu kostí.

Poruchy

Zvýšené i snížené množství kortizolu vede k *psychickým změnám* se zvýšením hladiny je spjat tzv. *Cushingův* [čti: kašingův] *syndrom*, kdy příčinou jsou tumory či adenomy kůry nadledvin aj. Denní množství kolísá, maximum je mezi 8. a 9. hodinou, minimum je o půlnoci.

Mineralokortikoidy

Hlavní úkol: řízení transportu Na^+ , K^+ v ledvinách, žlučníku, střevu, potních a slinných žlázách aj.

Aldosteron

Regulace syntézy a sekrece: systémem *renin-angiotensin* (základní úlohu má uvolňování *angiotensinu II* – viz dál), hladinou Na^+ , K^+ a polohou těla; syntézu podporuje ACTH

Účinky:

V ledvině zvyšuje *resorpci* Na^+ a *exkreci* K^+ , Mg^{2+} , NH_4^+ , H^+ ; sekundárně se zadržuje voda \Rightarrow zvětšení objemu ECT.

Poruchy

Při nadprodukcí hormonu dochází ke ztrátám „kyselých“ iontů, vzniká alkalosa, dochází k poškození ledvinových tubulů, polyurii, přesunům vody a iontů ve svalových buňkách

↑ *Hyperaldosteronismus* může mít příčinu v samotné kůře nadledvin (primární) nebo v regulačním systému (sekundární). Tato porucha vede zejména k *hypertenzi*

↓ *Hypoaldosteronismus* je způsoben všeobecnou nedostatečností kůry nadledvin. Průvodním zjevem je ztráta solí, jež vede k hyponatremii a hyperkalemii

Renin

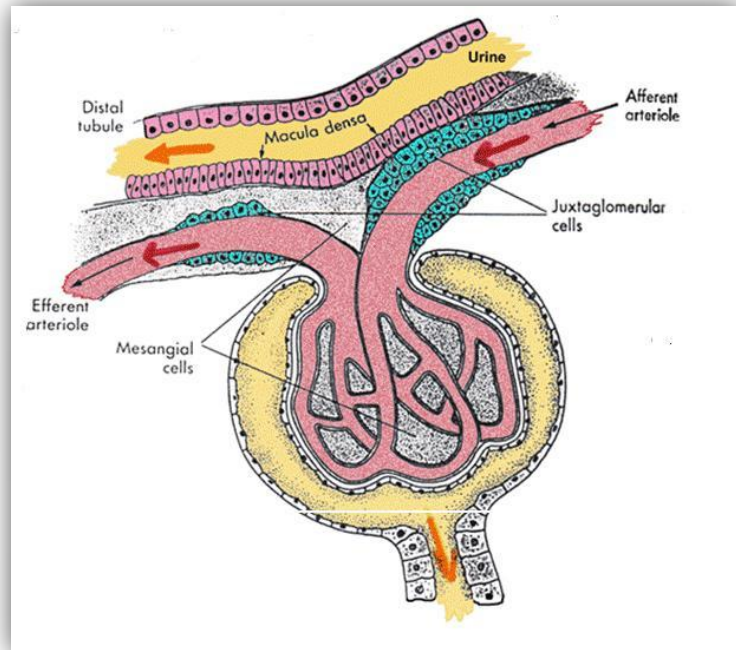
Enzym *renin* se tvoří v buňkách *juxtaglomerulárního aparátu*, jako reakce na pokles tlaku ve *vas afferens* ledviny a na snížení koncentrace Na^+ , které registrují chemoreceptory v ledvinných *macula densa*.

Juxtaglomerulární aparát

je endokrinní systém ledviny, strukturně nehomogenní a morfologicky nesouvislý komplex buněk, který řídí průtok krve glomerulem, filtrační tlak a tím i glomerulární filtraci.

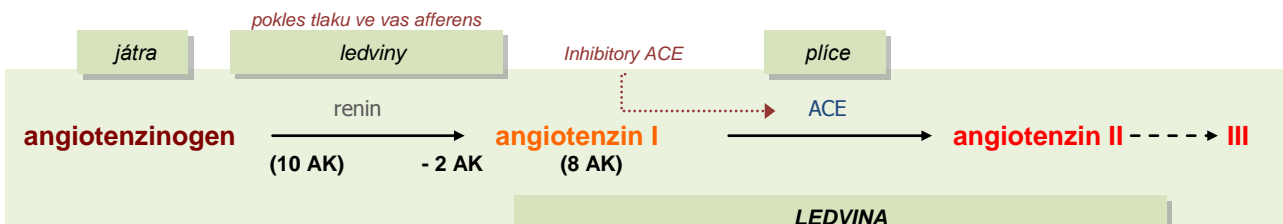
Tvoří ho:

- buňky *macula densa* distálního ledvinového tubulu
- těsně přiléhající části aferentní a eferentní arterioly téhož nefronu
- oblast *extraglomerulárního mesangia*, která obsahuje dva typy buněk
 - agranulární
 - granulární mesangiální (jsou součástí stěny arteriol)



Juxtaglomerulární aparát – zdroj reninu

Buňky *macula densa* rozpoznávají změny objemu tekutin a tuto informaci předávají dalším specializovaným buňkám, tzv. buňkám *juxtaglomerulárním*, což jsou hladké svalové buňky aferentních a eferentních arteriol. Produkují enzym **renin**, který se z nich dostává do krve. Renin odštěpuje z *angiotensinogenu* vytvořeného v játrech dekapetid, *angiotenzin I*. V plicích vytvořený (ale přítomný i v buňkách endotelu a epitelálních buňkách ledvin) *konvertující enzym* (ACE) odštěpuje z *angiotenzinu I* dvě aminokyseliny a vzniká vysoce aktivní oktapeptid *angiotenzin II*. Angiotenzin II se odbourává v játrech a v ledvinách. *Angiotenzin III*, metabolit angiotenzinu II, má stejné účinky jako angiotenzin II, v krvi se však vyskytuje ve 4x menším množství.



ACE = EC 3.4.15.1. dipeptidyl karboxypeptidáza I, konvertující enzym, angiotenzin konvertující enzym a řada dalších synonym; tzv. „inhibitory ACE“ brzdí přeměnu angiotenzinu I na angiotenzin II (III) a využívají se jako léky na snížení krevního tlaku.

Angiotenzin II a jeho účinky:

Angiotenzin II je nejsilnější vazokonstrikční látkou v organismu, působí přímo na arterioly; v CNS stimuluje oběhové „centrum“, což zesiluje jeho vazokonstrikční účinek přímo na arterioly; vytváří „pocit žízně“ a stimuluje vznik „chuti na slané“; vazokonstrikčním působením v ledvinách ovlivňuje renální průtok krve; v kůře nadledvin *přímo stimuluje uvolňování aldosteronu*. Aldosteron zvýší resorpci sodíkových kationtů v distálním tubulu ledviny, tím se zadržuje i voda, což s působením angiotenzinu vede ke zvýšení krevního tlaku a zlepšení průtoku (perfuze) ledvinami. Současně aldosteron podpoří vylučování draselných kationtů. Zvýšené hodnoty aldosteronu v krvi (hyperaldosteronismus) je možno sledovat stanovením poměru $\text{U-Na}^+/\text{U-K}^+$, se vzrůstající koncentrací hormonu se poměr snižuje.

Stanovení **reninové aktivity v plazmě** je indikováno při zkoumání primárního aldosteronismu (tj. u adenomu/karcinomu nadledvin a hyperplazie kůry nadledvin) a sekundárního aldosteronismu (renovaskulární choroba, deplece solí, kardiální selhání s ascitem, těhotenství aj.). Stanovuje se poměr koncentrace sérového aldosteronu ke koncentraci reninu.

Metody stanovení reninu, angiotenzinu, kortizolu a aldosteronu:

Renin	RIA
Angiotenzin II	RIA
Kortizol	imunoanalýza
Aldosteron	kapalinová chromatografie s tandemovou hmotností spektrometrií (LC-MS/MS)

Referenční intervaly hodnot:**Kortizol**, RIA, muži i ženy, přibližně:

100 – 500 nmol/l (odběr mezi 7. – 9. hodinou)

80 – 480 nmol/l (odběr mezi 16. – 18. hodinou)

Aldosteron: RIA, muži i ženy, přibližně:

0,03 – 0,4 nmol/l (v klidu); 0,1 – 0,9 (po zátěži)

Pohlavní hormony

Pohlavní hormony		
Androgeny	Estrogeny	Gestageny
Testosteron	Estron (E ₁)	Progesteron
Dihydrotestosteron	Estradiol (E ₂)	
	Estriol (E ₃)	

Androgeny**Testosteron****Charakteristika:**

Mužský pohlavní hormon testosteron je produkován v *Leydigových buňkách* varlat, v cílové tkáni se mění na vlastní účinnou formu, kterou je *5 α -dihydrotestosteron*.

Regulace produkce:

Hypotalamus: gonadoliberin

Hypofýza: lutropin a folitropin

Transport: Testosteron se částečně vylučuje do plazmy, kde se nachází ve vazbě se specifickým proteinem

Účinky:

- normální produkce je důležitá pro nerušený průběh spermatogeneze
- stimuluje činnost prostaty a semenných váčků
- periferní účinky (změny v pubertě, anabolický účín)

Odbourání: v játrech redukcí na 17-oxosteroidy, které se vylučují močí ve vazbě s kyselinou glukuronovou či sírovou

Poruchy

↑ : nadprodukce hormonu je vzácná, příčinou bývají nádory Leydigových buněk, u dospělých se neprojeví, u chlapců se projeví jako *pseudopubertas praecox* (předčasná puberta)

↓ : snížená produkce se objevuje u *hypogonadismus*

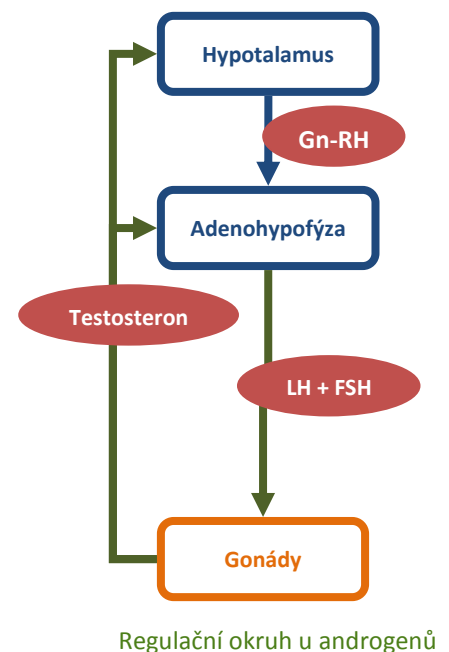
Metody stanovení

1. RIA, EIA
2. Plynová chromatografie, HPLC
3. Vazebné testy

Referenční interval hodnot

Muži: 10 – 42 nmol/l

Ženy: 0,7 – 5 nmol/l



Estrogeny a gestageny (progestiny)

Progesteron

[pro = pro (lat); gestatio = nesení, stav těhotenství (lat)]

Charakteristika: Důležitý meziprodukt biogenese steroidů kůry nadledvin a androgenů. Tvoří se a vylučuje se v *corpus luteum*, ve folikulech, v kůře nadledvin a v těhotenství je produkován také placentou.

Transport: ve vazbě na albumin

Inaktivace a vylučování: v játrech, vylučuje se močí ve vazbě na kyselinu glukuronovou (jedná se o dva metabolity souhrnně zvané pregnandiol)

Účinky:

- uplatňuje se v regulaci menstruačního cyklu; je vylučován v druhé polovině cyklu, tzv. *sekreční fázi*, kdy pod jeho vlivem dochází k přetváření děložní sliznice a negativně zpětnou vazbou působí na hypotalamus, tj. inhibuje tvorbu gonadoliberinu (přestávají dozrávat folikuly)
- má vliv na regulaci tělesné teploty (při sekreci vzrůst o 0,4 až 0,6 °C)

Metody stanovení progesteronu

Imunoanalýza (např. automaty AxSym, Immulite aj.)

Ukázka postupu při stanovení progesteronu tenkovrstvou chromatografií:

1. hydrolýza HCL + HCHO (formaldehyd), zahřívání
2. extrakce do organického rozpouštědla
3. promytí extraktu NaOH
4. odpar
5. rozpuštění v chloroformu
6. chromatografie na sypané vrstvě Al_2O_3 , spolu se standardními vzorky o vzrůstající koncentraci
7. vyvíjení v systému benzen-etanol (42:2), 20'
8. detekce koncentrovanou kyselinou sírovou a zahřátím na 70 °C po dobu 10'
9. vyhodnocení (vytvoří se žluté skvrny, které se porovnají se standardy)

Referenční interval hodnot

Závisí na fázi menstruačního cyklu, jestli je žena ve fertilním věku nebo po menopauze (hodnoty shodné s muži), na použité metodě. Řádově se pohybuje do desítek nmol/l

Poznámka: jak již bylo zmíněno, v moči lze stanovit pregnandiol, což je metabolit progesteronu; referenční interval hodnot u dospělých je do 8,9 μ mol/l

Estrogeny

[estrogeny – odvozeno od toho, že tyto látky vyvolávají u zvířat říji neboli estrus]

Hlavním estrogenem je *estradiol*, nicméně hormonální účinek mají i estron a estriol, a to v poměru

$E_2 : E_1 : E_3 = 10 : 5 : 1$

Účinky:

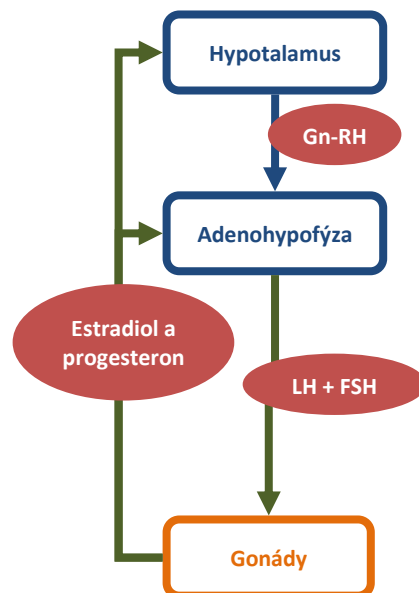
Estrogeny způsobují charakteristické rozdělení podkožní tukové tkáně a tím vývoj sekundárních ženských pohlavních znaků, působí na děložní sliznici v proliferační fázi menstruačního cyklu, spolu s progesteronem vyvolávají sekreční fázi menstruačního cyklu, retence NaCl a vody, zastavují růst kostí do délky, povzbuzují činnost osteoblastů, sexuální chování žen.

Estradiol

Tvoří se ve vaječnicích, kůře nadledvin a intersticiálních Leydigových buňkách varlat

Regulace produkce: folitropin a lutropin

Inaktivace: v játrech, konjugace s kyselinou sírovou a kyselinou glukuronovou, část se vylučuje močí, část žlučí; hlavní odpadní formou je estriol



Regulační okruh u estrogenů a gestagenů

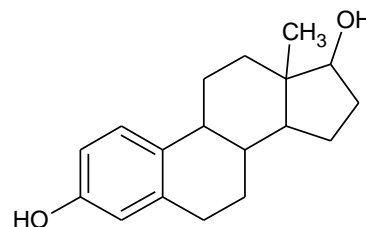
Poruchy v produkci ovariálních hormonů

Způsobují poruchy v menstruačním cyklu

Referenční interval hodnot

Muži: 36 – 220 $\mu\text{mol/l}$ (plazma)

Ženy: podle fáze menstruačního cyklu

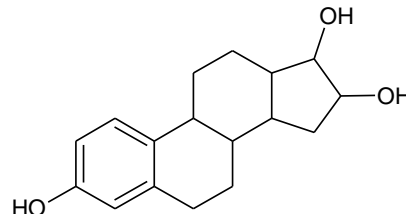


18C ESTRADIOL
17 β -1,3,5(10)-astratrien-3,17 β -diol

Estriol**Tvorba:**

- placenta
- játra plodu (z cholesterolu v kůře nadledvin přes placentu – viz kapitola *Plodová voda, fetoplacentární jednotka*)
- jako odpadní produkt estradiolu v játrech

Vzniká větší měrou v těhotenství, jeho stanovení se užívá k posouzení stavu placenty a stavu plodu. Metoda stanovení je např. fluorimetrie (s hydrochinonem, kyselinou sírovou, p-nitrofenolem v chloroformu, za varu, při 546/571 nm)



18C ESTRIOL
(16 α ,17 β)-estra-1,3,5(10)-triene-3,16,17-triol

Choriogonadotropin (hCG, HCG)

Placentární proteohormon (glykoprotein) podobný *hormonům hypofýzy*, ale není s nimi totožný. Stanovení se využívá k průkazu těhotenství, přičemž jedno stanovení nestačí.

Metody stanovení hCG:

1. Imunostanovení (rutinní praxe, analyzátory)
2. Chromatografické techniky (plynová / GC, kapalinová / LC, tenkovrstvá / TLC)
3. Fluorimetrie

Principy komerčních testů na orientační stanovení těhotenství:

- inhibice aglutinace senzibilizovaných beraních krvinek – v přítomnosti HCG nedojde k aglutinaci (původní testy)
- imunochemický princip s využitím specifických protilátek

Referenční interval hodnot: 0 – 10 U/l (IMx, MEIA)

Přehled hormonů produkovaných placentou

- estradiol
- estriol
- progesteron
- lidský choriogonadotropin (HCG, hCG)
- choriový somatomotropin (HCS, hCS, tj. placentární laktogen)

Menstruační cyklus

Menstruační cyklus je příprava ženského organismu na otěhotnění: pod vlivem hormonů uzrává oocyt (oocyt = lidské vajíčko) a hormonální působení připravuje děložní sliznici na jeho přijetí po oplodnění. Pokud se tak nestane, připravená sliznice atrofuje, odloučí se a spolu s vajíčkem odchází v podobě krvácení. Následuje nová příprava na těhotenství. Typický menstruační cyklus trvá asi 28 dní, i když jeho délka může mezi jednotlivými ženami kolísat. Dohodou se počítá první den krvácení jako den první, i když tato fáze vlastně náleží do předchozího menstruačního cyklu.

1. - 5. den: menstruace

Pokles hladiny progesteronu v těle spouští začátek menstruace - oddělení vrchních vrstev buněk sliznice. Během této doby hormony hypofýzy (gonadotropiny) vznikající na podněty gonadoliberinů z hypotalamu, povzbuzují zrání vajíčka ve vaječniku. Ten produkuje rostoucí množství estrogenu.

6. - 11. den: proliferační fáze, folikulární fáze u vaječniku

[proles = potomek (lat); ferre = nést (lat); proliferatio = novotvoření tkáně, bujení

Menstruační krvácení obvykle končí 5. dnem. Vlivem LH a FSH dozraje v jednom vaječniku vaječná buňka (oocyt). V některých případech dozrají i dvě i více vajíček, což může později vést k narození dvojčat, trojčat, čtyřčat či dokonce paterčat. LH podporuje v dozrávajícím folikulu (Graaf) tvorbu estrogenů. Estrogeny podporují během dozrávání oocytů výstavbu děložní sliznice, která se od spodních vrstev obnovuje rychlým buněčným dělením a připravují ji na uložení zárodku.

Mezi 9. a 13. dnem dosáhne hladina estrogenu svého vrcholu. Je to začátek plodného období. Hladina gonadotropinů, které způsobují zrání vajíčka, dosahuje svého vrcholu 13. dne a 14. dne se dostavuje ovulace.

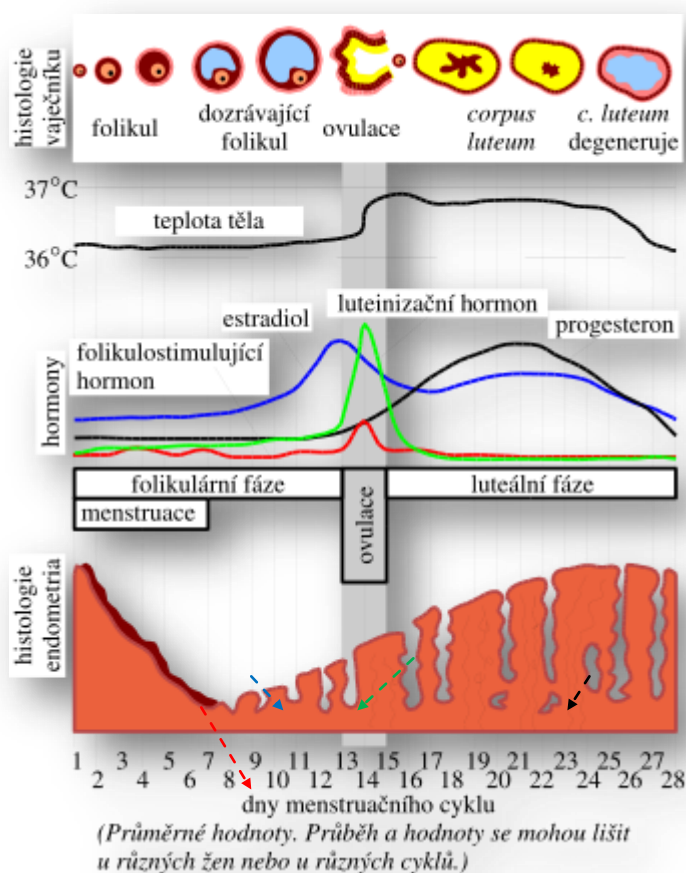
12. (-14.) den: ovulace (ovum = vejce [lat])

Při vlastní ovulaci dochází k puknutí folikulu, který se vyklenuje na povrchu vaječniku a dojde k vyplavení vajíčka, které je zachyceno břišním ústím vejcovodu. Ve vejcovodu ev. dojde k oplodnění. Vajíčko je následně, pohybem řasinek ve vejcovodu, transportováno směrem do dělohy. V této fázi je děložní čípek otevřen, takže spermie mohou proniknout do dělohy. Vzhledem k časově omezené oplozovací schopnosti spermií a k omezeným možnostem oplodnění vajíčka je schopnost početí u ženy omezena jen na dva dny pohlavního cyklu. Po ovulaci se bazální teplota (ráno měřená) zvýší o 0,2 až 0,5 °C, čehož lze využít ke stanovení ovulace. Pokud k ovulaci během menstruačního cyklu nedojde (anovulační cykly), nedojde k uvolnění vajíčka a žena nemůže otěhotnět.

15. - 28. den: sekreční fáze, luteální fáze u vaječniku

15. - 16. den lze pozorovat hustý želatinózní hlen z hrdla děložního, který produkují žlázy děložní sliznice a má v případě oplodnění vajíčka sloužit k jeho výživě. Není-li vajíčko po ovulaci oplodněno, hladina estrogenu výrazně klesá. Z folikulu, z kterého se vajíčko uvolnilo, zbyla blanka s výstelkou buněk, do kterých se ukládá žluté barvivo (lutein). Folikul se mění ve žlázu, zvanou *corpus luteum* (žluté tělísko), která vylučuje progesteron. 24. - 28. den aktivita žlutého tělíska klesá tak, jak tato žláзка zaniká a hladina progesteronu se snižuje, tím se snižuje i jeho negativní zpětná vazba na hypotalamus. Na vaječniku zůstane po žlutém tělísku drobná jizvička, která časem zbledne (*corpus albicans*). Některé ženy začnou pociťovat premenstruační příznaky, jako citlivost prsů a změny nálady. Může se objevit i mírný otok, způsobený zadržováním tekutin. V děložní sliznici dochází ke stále silnějším poruchám prokrvování horních vrstev, které jsou nakonec odplavovány (menstruace). Začátek menstruace může být signalizován poklesem teploty o 0,5 °C

Schéma průběhu menstruačního cyklu

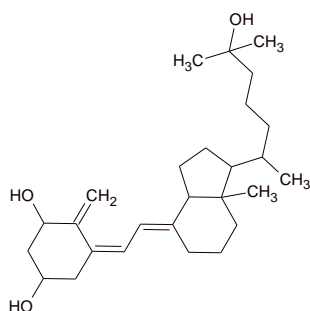


Poruchy menstruačního cyklu			
	Krvácení	Odborné označení	
Poruchy nástupu a ukončení menstruačních cyklů	předčasný začátek opožděný začátek předčasná menopauza opožděná menopauza	<i>menstruatio praecox</i> <i>menstruatio tarda</i>	před 9. rokem věku po 14. roku věku před 40. rokem věku po 52. roku věku
Poruchy cyklu při zachovalém rytmu krvácení	anovulační silné slabé mezi menstruacemi před menstruací po menstruaci	<i>hypermenorea</i> <i>hypomenorea</i> <i>intermenstruační</i> <i>premenstruační</i> <i>postmenstruační</i>	
Poruchy rytmu krvácení	častější méně časté	<i>polymenorea</i> <i>oligomenorea</i>	cyklus < 23 dnů cyklus > 36 dnů
Dysfunkční krvácení	nepřavidelné, protrahované	<i>metrorrhagia</i>	
Stav bez menstruačního krvácení	žádné	<i>amenorea</i>	
Bolestivé syndromy provázející menstruaci	bolesti při bolesti před bolesti mezi	<i>dysmenorea</i> <i>premenstruační syndrom</i> <i>intermenstruační bolest</i>	

Je-li vajíčko oplodněno, zvětší se rychle probíhajícím dělením a během 3 – 4 dnů dospěje do dělohy. Hladina progesteronu v krvi silně stoupne a jeho produkci zajišťuje žluté tělísko ještě do 3. měsíce těhotenství. Progesteron omezí v hypotalamu výdej gonadoliberinu, tím se zabrání dalšímu dozrávání folikulů. Několik dnů potom, co se zárodek dostane do dělohy, uchytí se v její sliznici a za stálého buněčného dělení zde dochází ke vzniku embrya (embryon = zárodek [řec]), vytvářejí se zárodečné listy a různé tkáně a orgány. Po početí je zárodek po několik dnů vyživován sekrety vaječnicku a děložní sliznice, později vzniká mezi embryem a děložní sliznicí plodový koláč (placenta). Zásobování plodu živinami z placenty je zajištěno pupečnickem.

Kalcitriol (D-hormon, 1,25-dihydroxycholecalciferol)

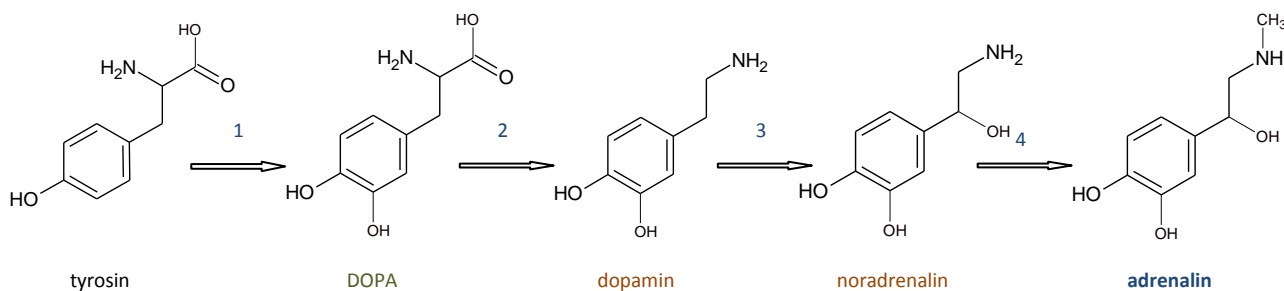
Kalcitriol se mnohými autory považuje za další steroidní hormon. Tvoří se v ledvinách (regulace *parathyrinem*), ve sliznici tenkého střeva stimuluje syntézu specifického proteinu, nutného pro vazbu a absorpci vápníku (další viz kapitolu 13 Vitamíny), podporuje resorpci Ca^{2+} ze střeva, má vliv na mineralizaci kostí, při předávkování dochází k odvápnění)



1,25-dihydroxycholecalciferol

Metody stanovení: imunochemie (např. metodou *CMIA* na analyzátoru *Architect* fy Abbott Laboratories, viz. kapitola *Vitamíny* aj.).

Hormony dřeně nadledvin (katecholaminy)



DOPA = dihydroxyfenylalanin

1 = tyrosin hydroxyláza

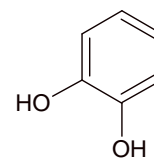
3 = dopamin- β -hydroxyláza

dopamin = PIH

2 = DOPA dekarboxyláza

4 = fenyletanolamin-N-metyltransferáza

Katecholaminy jsou odvozeny od aminokyseliny tyrosinu, která je v první fázi syntézy obohacena o alkoholickou skupinu, takže tvoří strukturu typickou pro katechol (viz vzorec), odtud název celé skupiny těchto látek, v dalších fázích dochází k úpravě postranního řetězce. Na schématu na předchozí straně je znázorněno, kde končí v konkrétních buňkách či tkáni přeměna tyrosinu na konečný produkt. Např. adrenalin se tvoří (závěrečnou metylací pomocí) pouze v dřeni nadledvin.



Katechol

DOPA, L-DOPA

L-DOPA, L-3,4-dihydroxyfenylalanin, se vyskytuje v živočišné i rostlinné říši. Je prekursorem dopaminu, noradrenalinu a adrenalinu, používá se při léčbě Parkinsonovy choroby a dopamin-responzivní dystonie (DRD, Segawova nemoc).

Dystonie – *mimovolní kontrakce delšího trvání na jednotlivých svazech nebo svalových skupinách, často působící abnormální pohyby nebo abnormální postavení různých částí těla. Bývá i projevem některých vzácnějších vrozených poruch metabolismu (gangliosidózy aj.). Dystonie, jeden z dyskinetických symptomů. Dyskinetickým projevem se rozumí mimovolní pohyby, které obvykle vznikají poruchami v extrapyramidovém systému mozku.*

DOPA může, na rozdíl od dopaminu, procházet hematoencefalickou bariérou do centrálního nervového systému, kde se přeměňuje (DOPA dekarboxylázou se spoluúčastí vitamínu B₆) na dopamin (vlastní léčebný agens), čímž se zvyšuje jeho koncentrace a účinnost léčby Parkinsonovy choroby a dopamin-responzivní dystonie. Předávkování může vést k vedlejším účinkům, jako jsou hypertenze, srdeční arytmie, poruchy dýchání aj.

Dopamin

Dopamin je důležitou látkou v mnoha ohledech. V mozku funguje jako *neurotransmitter*, tj. přenašeč nervových vzruchů mezi nervovými buňkami. V mozku existuje několik odlišných *dopaminových systémů*, z nichž jeden hraje vedoucí roli v chování orientovaném na odměnu. Každý typ odměny vede ke zvýšení hladiny dopaminu v mozku a různé drogy, včetně kokainu, amfetaminu a metamfetaminu, zesilují účinky dopaminu. Jiné dopaminové systémy se zúčastňují řízení motoriky a sekrece několika důležitých hormonů. S dysfunkcí dopaminového systému je spojeno několik vážných chorob nervového systému, jako jsou schizofrenie, Parkinsonova choroba a některé další. Parkinsonova choroba je degenerativní onemocnění, při kterém dochází, ve střední oblasti mozku zvané *substantia nigra*, ke ztrátě neuronů produkujících dopamin. Výsledkem je dyskinetický projev, deprese aj.

Mimo centrální nervový systém dopamin inhibuje sekreci noradrenalinu a působí jako vazodilatátor, v mnoha tkáních dochází k lokální syntéze dopaminu a jeho parakrinnímu působení: v ledvinách zvyšuje exkreci sodných iontů a moči, redukuje motilitu zažívacího ústrojí, chrání střevní sliznici, redukuje produkci inzulinu ve slinivce, v imunitním systému redukuje aktivitu lymfocytů.

Dopamin se vylučuje také v hypotalamu a působí jako *neurokrinní inhibitor* na hypofýzu, kde negativně ovlivňuje sekreci *prolaktinu*. Nazývá se proto také *prolaktostatin*, *prolaktin-inhibující hormon (PIH)* nebo prolaktin inhibující faktor (PIF).

Mnoho léčiv buď pozměňuje metabolické cesty, kterými tělo vytváří dopamin, nebo dopamin přímo využívá. K léčbě se používá i samotný dopamin. Některá léčiva naopak účinky dopaminu potlačují.

Odbourání dopaminu: Normální cesta je odbourání oxidací za katalýzy enzymem *monoaminoxidázou (MAO)*, často však dochází k autooxidaci dopaminu a tvorbě chinonů a volných radikálů. Tento proces může přispívat ke ztrátě buněk u Parkinsonovy choroby.

Noradrenalin (norepinefrin)

Rovněž noradrenalin (název noradrenalin je odvozen z latiny, norepinefrin z řečtiny) zastává roli jak neurotransmiteru, tak i hormonu. Jako hormon je zejména zodpovědný za ostrážitost a koncentraci. Jako *stresový* hormon ovlivňuje amygdalu, která řídí pozornost a reakce a spolu s adrenalinem tvoří základ reakce „bojuj nebo uteč“. Přímo tedy ovlivňuje srdeční tep, uvolňuje glukózu z energetických zásob, zvyšuje průtok krve kosterním svalstvem, zvyšuje oxysličení mozku aj. Oblasti, na které noradrenalin působí, se označují jako *noradrenergní*.

Je syntetizován v oblasti mozkového kmene zvané *lokus coeruleus*, v postgangliových neuronech sympatiku a v dřeni nadledvin, která může být považována za jakési postgangliové nervové buňky, ačkoliv zde dochází k uvolňování noradrenalinu do krve.

Adrenalin

Adrenalin (epinefrin) je klasický hormon přenášený krví, je to hormon poplachové reakce.

Účinky:

Účinky jsou mnohotvárné, na určité cílové orgány působí kvantitativně i kvalitativně různě, což je způsobeno tím, že působí *přes dva typy receptorů* - $\alpha_{1,2}$ a $\beta_{1,2}$ (tzv. *adrenoreceptory*, které se dělí podle citlivosti k adrenalinu, noradrenalinu a exogennímu izoproterenolu^{*)}). Účinky jsou závislé na dávce hormonu a především na poměru receptoru α a β v cílovém orgánu.

^{*)}*Isoprenalin – isoproterenol, isopropylarterenol, aminoderivat benzylalkoholu užívaný ve formě hydrochloridu; betasympatomimetikum s účinky podobnými adrenalinu.*

Adrenalin – působí zhruba stejně na α i β receptory

Noradrenalin – působí převážně přes β receptory

Realizace působení hormonu:

α_1 - 2. posel - ITF (inositoltrifosfát), který působí spolu s Ca^{2+} a GMP (guanosinmonofosfát)

α_2 – prostřednictvím G_i – proteinu, který inhibuje adenylátcyklázu a také prostřednictvím cAMP

$\beta_{1,2}$ – 2. posel – cAMP

Farmakoterapie:

- specifická stimulace receptorů α a β (*sympatikomimetika α a β* ; adrenergika; stimulují sympatickou část vegetativního nerového systému, čímž dojde ke zvýšení krevního tlaku, zrychlení pulzu, rozšíření dýchacích cest a všeobecnému zvýšení výkonu a spotřeby energie)
- selektivní blokáda receptorů α_1 a β (*blokátory α_1 a β* , jsou antihypertenziva, snižují krevní tlak)

Příklad působení adrenalinu: konstrikce arteriol kůže a střev, dilatace arteriol kosterních svalů, stimulace srdeční činnosti, vzrůst krevního tlaku, vzrůst glykogenolýzy v játrech a v kosterních svalech, vzrůst lipolýzy v tukové tkáni

Odbourávání katecholaminů:

Produktem odbourávání katecholaminů jsou stabilní 3-metoxi metabolity adrenalinu a noradrenalinu *metanefrin* a *normetanefrin* (souhrnný název *metanefriny*), které mají své diagnostické uplatnění (viz dále). Tyto metabolity jsou dále metabolizovány na konjugované metanefriny. Dalšími produkty odbourání jsou kyselina vanilmandlová (KVM), homovanilová (KHV) aj. Metabolity se vylučují močí. KVM je *mírou obratu katecholaminů*.

Metody stanovení katecholaminů:

V séru resp. v plazmě se stanovují *hormony a metanefriny*, v moči *kyselina vanilmandlová*

- *HPLC s elektrochemickou detekcí (HPLC-EC)*. Vzorek je podroben HPLC proceduře po předchozí separaci hormonu či metabolitu. Příprava vzorku obvykle obsahuje některou chromatografickou techniku, případně srážení, hydrolyzu apod. Některé postupy umožňují stanovit i několik hormonů vedle sebe (např. současné stanovení adrenalinu, noradrenalinu a dopaminu HPLC technikou s amperometrickou detekcí, po předchozí katexové separaci analytů).
- HPLC-EC je postupně nahrazováno LC-MS/MS, tj. kapalinovou chromatografií s tandemovou hmotnostní spektrometrií, která je jednodušší v tom smyslu, že nepotřebuje předchozí úpravu vzorku a šetří tak laboratorní práci a čas.

Stanovení plazmatických metanefrinů: screeningový test u předpokládané diagnózy feochromocytomů, nádorů dřeně nadledvin produkujících velká množství katecholaminů. Metanefriny se vylučují do krve spolu s hormony což vede k nárůstu jejich hladiny. Pro identifikaci feochromocytomu je stanovení metanefrinů citlivějším a specifitějším testem než stanovení katecholaminů. Metoda stanovení je totožná s metodou pro stanovení katecholaminů.

Klinické poznámky

↓ *Stavy z nedostatku katecholaminů* jsou vzácné, hypofunkce dřeně nadledvin se neprojeví, neurony stačí hormony syntetizovat

↑ *Nadbytek* je způsoben hyperfunkcí z nádorů (*feochromocytomy a paragangliomy*): hypertenze, zvýšený metabolismus, záchvatové bolesti hlavy, tachykardie, pocení

Referenční interval hodnot pro kyselinu vanilmandlovou (KVM) v moči

11,4 – 30,0 nmol/l

Tkáňové hormony

Tkáňovými hormony se nazývají různorodé látky hormonální povahy, produkované v různých buňkách mimo endokrinní žlázy. Patří sem např. oxid dusnatý, ale i peptidy o desítkách aminokyselin, dále dopamin a noradrenalin a další látky. Jejich funkce je rovněž různorodá. Lze rozlišovat (viz str. 3) *tkáňové hormony* tvořené neendokrinní tkání (např. gastrin), a *mediátory*, působící v místě vzniku (např. histamin). Klinicky se nestanovují. Některé se používají při funkčních zkouškách GIT (dříve histamin, nyní pentagastrin, což je syntetický analog gastrinu, sekretin, pankreozymín). Léčebně uplatnění mají např. dopamin, erythropoetin, oxid dusnatý.

Výčet některých tkáňových hormonů

Hormon	Místo vzniku	Hlavní funkce
Angiotenzin	Proteolýzou v krevním oběhu z angiotenzinogenu	Vazokonstrikce, sekrece aldosteronu
Bradykinin	Proteolýzou z bradykininogenu	Vazodilatace
Endorfiny	CNS, β -lipotrofin (součást POMC)	Tlumí v CNS reakci na bolest
Noradrenalin	Adrenergní nervová vlákna	Neurotransmitter
Dopamin	CNS	Neurotransmitter, inhibice sekrece prolaktinu
Kyselina γ -aminomáselná (GABA)	CNS	Neurotransmitter (inhibiční spoje)
Serotonin	Argentofinní buňky střeva	Kontrakce svalstva cév a GIT
Histamin	Žírné buňky	Mediátor alergické reakce
Natriuretické peptidy (ANP, BNP, CNP)	Svalovina srdečních síní, CNS, endotel	Zvýšení exkrece Na^+ ledvinami
Prostaglandiny (PG) prostacyklin (PGI_2) tromboxan (TXA_2)	Různé buňky Endoteliální buňky Trombocyty	Ovlivnění hladkého svalstva cév, dělohy aj. Vazodilatace, snížení agregace trombocytů Opačný účinek než prostacyklin
Gastrin	Sliznice pylorické části žaludku	Sekrece žaludeční šťávy
Sekretin	Sliznice duodena	Sekrece pankreatické šťávy
Pankreozymín (= cholecystokinín)	Sliznice duodena	Sekrece pankreatické šťávy, kontrakce žlučníku
Leptin	Adipocyty	Regulace tělesné hmotnosti
Oxid dusnatý (NO)	Endotel a řada dalších buněk	Vazodilatace, imunitní funkce, neurotransmitter aj.

Zdroj: Jaroslav Racek et al., *Klinická biochemie*, Galén, 1999, Univerzita Karlova v Praze, nakladatelství Karolinum, 1999; upraveno

Cytokiny

(*cyto*-,ř., buňka; *-kinos*-,ř., pohyb)

Cytokiny jsou signální molekuly využívané při mezibuněčné komunikaci. Pomocí cytokinů se buňky ovlivňují na větší vzdálenosti. Působí zejména v imunitním systému, kde ovlivňují růst, diferenciaci a chování buněk. Jsou to malé molekuly bílkovinné povahy (proteiny, peptidy, glykoproteiny) produkované četnými buňkami imunitního systému a gliovými buňkami nervového systému. Prakticky každá jaderná buňka produkuje IL-1, IL-6 a TNF- α . Zejména tato skutečnost, rozsáhlá distribuce buněčných zdrojů cytokinů, je odlišuje od (klasických) hormonů, které jsou vylučovány endokrinními žlázami. V podstatě nic nebrání tomu, abychom je zařadili mezi tkáňové hormony. Působí autokrinně, parakrinně i endokrinně. Často spolupracuje několik cytokinů současně (*cytokinová síť*). Cytokiny jsou ve svých účincích *pleiotropní* (působí na několik různých druhů buněk) a mnohdy mohou být jednotlivé cytokiny nahrazeny jinými (*redundance*).

Účinkování cytokinů je zprostředkováno odpovídajícími specifickými receptory, které tvoří rodiny a superrodiny (např. *superrodina imunoglobulinů*, *rodina hematopoietického růstového faktoru*, *rodina interferonu*, *rodina tumor nekrotizujících faktorů* atd.). Receptory cytokinů se obvykle skládají ze dvou, někdy ze tří podjednotek. Jedna podjednotka obstarává spojení s cytokinem, druhá se signalizačními intracelulárními molekulami. Skutečnost, že tato, signalizační podjednotka bývá sdílena několika cytokinovými receptory, je sdružuje do zmiňovaných „rodin“.

Vlastní účinky jednotlivých cytokinů jsou ovlivňovány jeho extracelulárním množstvím, přítomností a množstvím receptoru na povrchu buňky a signálech, aktivovaných vazbou na receptor a směřujících do buňky.

Cytokiny regulují (prostřednictvím kaskád či intracelulární signalizace navazujících na vazbu cytokinu na receptor) některé geny (ve smyslu aktivity i inaktivity) a jejich transkripční faktory (aktivátory či represory genové aktivity). Výsledkem je produkce dalších cytokinů, vzrůst počtu povrchových receptorů pro další molekuly nebo potlačení vlastních účinků (inhibice zpětnou vazbou).

Názvosloví cytokinů se postupně vyvíjelo, některé formy byly opuštěny, jiné nastoleny, některé názvy přetrvávají z původních představ. Zhruba od roku 2008 se cytokiny řadí mezi *imunomodulační agens*.

Rozeznává se několik skupin cytokinů, kde názvy jsou poplatné spíše *historickému vývoji*, než strukturním a funkčním vztahům:

- *Interleukiny* (IL-1 až IL-?: denně se objevují nové interleukiny, u kterých se pokračuje v postupném číslování za pomlčkou; v době psaní textu byl poslední látkou tohoto typu IL-37)
- *Chemokiny* (IL-8 a další molekuly s chemotaktickou aktivitou)
- *Interferony* (IFN- α , IFN- β a IFN- γ ; regulátory imunity, složky antivirových obranných mechanismů)
- *Transformující růstové faktory* (TGF- α , TGF- β)
- *Faktory stimulující kolonie* (CSF: G-CSF stimulují v kostní dřeni diferenciaci granulocytů, M-CSF stimulují diferenciaci monocytů a GM-CSF oba typy myeloidních buněk)
- *Faktory nekrotizující nádory* (TNF = TNF- α ; kachektin; lymfotoxin = LT = TNF- β ; tyto látky působí regulačně a cytotoxicky)
- *Jiné růstové faktory* (SCF – růstový faktor kmenových buněk; EPO – erythropoietin; FGF – růstový faktor fibroblastů; NGF – nervový růstový faktor; LIF – faktor inhibující leukemii; aj.).

Existuje i klasifikace podle *struktury*, kde členové každé skupiny vykazují určitou podobnost v pořadí aminokyselin i v celkové prostorové struktuře molekul. Takže se rozeznávají strukturní skupiny

- *Hemopoietiny*
- *Interferony a rodina IL-10*
- *Skupina IL-1*
- *Skupina IL-12*
- *Skupina TNF*
- *Skupina TGF- β*
- *Chemokiny*
- *Ostatní* (mají struktury odlišné od struktur jiných cytokinů)

Rovněž existuje klasifikace cytokinů podle *funkce*. Rozlišují se cytokiny

- *prozánětlivé* (podporující zánětlivou reakci)
- *protizánětlivé* (s převážně inhibičním účinkem na zánětlivé reakce)
- *s aktivitou růstových faktorů*

- uplatňující se v humorální protilátkové imunitě
- uplatňující se v buněčně zprostředkované imunitě
- s antivirovým účinkem.

Pro podrobnosti je třeba nahlédnout do učebnic imunologie.

Působení cytokinů je spojováno s mnoha chorobnými stavy – od většiny depresí, přes Alzheimerovu chorobu, po nádorová onemocnění. Hladiny v plazmě mohou být zvýšeny nebo změněny. Zvýšená sekrece cytokinů může spustit nebezpečný syndrom známý jako cytokinová smršť (*cytokine storm, hypercytokinemie - potenciálně fatální imunitní reakce, která sestává z pozitivního feedback-loopu, tj. zpětné smyčky, mezi cytokiny a imunitními buňkami, což vede ke značnému zvýšení hladin různých cytokinů*).

Plazmatické hladiny různých cytokinů mohou poskytnout informaci o přítomnosti nebo i prediktivní hodnotu zánětlivých procesů včetně autoimunitních onemocnění, jakým je revmatoidní artritida, rovněž jako o imunomodulačních efektech potravin a léků (*drog, drugs*). Navíc, zvýšené hladiny IL-7, důležitého cytokinu účastnícího se homeostáze T-buněk, byly detekovány v plazmě pacientů infikovaných HIV.

V současné době mají cytokiny (jejich stanovení) jasný význam v infekčním lékařství, nefrologii, kardiologii, pneumologii a dalších oborech, nezastupitelné jsou v transplantologii (včasné zachycení zvýšené sekrece některých cytokinů může zabránit vážné komplikaci, tzv. *multiorgánovému selhání (multi-organ failure, MOF)*). Význam cytokinů do budoucna poroste, a to i z hlediska jejich využití v léčbě.

Terapeutické využití cytokinů

Je možné díky poznání jejich biologických funkcí a také díky možnosti získat je v dostatečném množství pomocí metod genového inženýrství. Produkty získané těmito metodami se označují rHu-, tj. rekombinantní, humánní, např. *rHu-IL-2*. Praktické využití mají zejména růstové faktory (*CSF, colony stimulating factor, faktor stimulující ikolonie*), IL-2 a interferony. Interleukin 6 (IL-6) slouží jako marker zánětu (srovnej též zmínku v kreditním kurzu *Biomarkery*).

Příklady

	Onemocnění	Stav využití
IL-2	karcinom ledvin, melanom	
IL-4	autoimunita	<i>klinické zkoušky</i>
IL-6	nedostatek trombocytů	<i>klinické zkoušky</i>
IL-8	onkologie	<i>klinické zkoušky</i>
IL-10	autoimunita	<i>klinické zkoušky</i>
IL-12	onkologie	<i>klinické zkoušky</i>
IL-16	AIDS	<i>klinické zkoušky</i>
INF- α	melanom, karcinom ledvin, leukemie z vlasatých buněk, hepatitida B a jiné chronické virózy	
INF- β	roztoušená skleróza	

Vysvětlivky zkratk

	Původ zkratky	Český název
TGF	<i>Transforming Growth Factors</i>	Transformující růstové faktory
CSF	<i>Colony Stimulating Factors</i>	Faktory stimulující kolonie
TNF	<i>Tumour Necrosis Factors</i>	Faktory nekrotizující nádory
SCF	<i>Stem Cell Factor</i>	Růstový faktor kmenových buněk
FGF	<i>Fibroblasts Growth Factor</i>	Růstový faktor fibroblastů
NGF	<i>Neural Growth Factor</i>	Nervový růstový faktor
LIF	<i>Leukemia Inhibiting Factor</i>	Faktor inhibující leukemii

Přehled hormonů (bez tkáňových) – shrnutí

Podle S. Silbernagl, A. Despopoulos, Atlas fyziologie člověka, Grada Avicenum, Praha 1993

