

**Univerzita Karlova v Praze**

**1. lékařská fakulta**

**Studijní program: Biomedicína**

**Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka**



**MUDr. Mikuláš Kosák**

**Hypothalamo-hypofyzární dysfunkce a jejich  
hodnocení za různých patologických stavů.**

*Impairment of hypothalamo-pituitary function and its evaluation in various pathologic  
situations.*

**Disertační práce**

**Školitel: prof. MUDr. Václav Hána, CSc.**

**Praha, 2014**

## Obsah

<b>1. Poděkování</b> .....	5
<b>2. Seznam použitých zkratek</b> .....	6
<b>3. Abstrakt</b> .....	8
<b>4. Abstract</b> .....	9
<b>5. Úvod</b> .....	10
5.1. Hypothalamo hypofyzární jednotka.....	10
5.2. Hypothalamus.....	11
5.3. Hypofýza.....	11
5.4. Adenohypofýza.....	12
5.5. Regulační mechanismy hypothalamo-hypofyzární jednotky.....	13
5.5.1. Thyreotropní osa.....	13
5.5.2. Kortikotropní osa.....	14
5.5.3. Gonadotropní osa.....	15
5.5.4. Sekrece GH.....	17
5.5.5. Sekrece prolaktinu.....	19
5.6. Neurohypofýza.....	20
5.7. Hypopituitarismus.....	21
5.7.1. Definice.....	21
5.7.2. Epidemiologie.....	21
5.7.3. Etiopatogeneze.....	22
5.7.4. Klinické projevy hypopituitarismu.....	23
5.7.4.1. Deficit ACTH.....	23
5.7.4.2. Deficit TSH.....	24
5.7.4.3. Deficit LH/FSH.....	24
5.7.4.4. Deficit GH.....	25
5.7.4.5. Deficit prolaktinu.....	25
5.7.5. Diagnostika hypopituitarismu.....	25
5.7.5.1. Dynamické testy pro hodnocení HPA osy.....	25
5.7.5.2. Dynamické testy pro hodnocení sekrece GH.....	28
5.7.5.3. Dynamické testy pro hodnocení gonadotropní osy.....	29
5.7.5.4. Dynamické testy pro hodnocení thyreotropní osy.....	30
5.8. Poruchy funkce neurohypofýzy.....	30
5.9. Využití zobrazovacích metod v diagnostice poruch hypofýzy.....	32

5.10. Traumatické poranění mozku .....	33
5.10.1. Definice.....	33
5.10.2. Klasifikace.....	35
5.10.2.1. Primární poranění.....	35
5.10.2.2. Sekundární poranění.....	36
5.10.3. Epidemiologie.....	36
5.10.4. Komplikace po TBI.....	37
5.10.5. Hodnocení a predikce následků TBI.....	38
5.10.6. Subdurální hematoma.....	41
5.10.6.1. Definice.....	41
5.10.6.2. Patogeneze.....	41
5.10.6.3. Epidemiologie.....	42
5.11. Poruchy funkce hypofýzy po TBI a SAK.....	43
5.11.1. Poruchy sekrece hormonů adenohipofýzy.....	43
5.11.1.1. Akutní fáze.....	43
5.11.1.2. Chronická fáze.....	45
5.11.2. Poruchy funkce neurohypofýzy.....	50
5.11.3. Patogeneze poškození hypothalamu a hypofýzy po TBI a SAK.....	51
5.11.4. Rizikové faktory vzniku endokrinních poruchy po TBI a SAK.....	53
5.12. Nové metody v diagnostice poruchy kortizolu.....	54
5.12.1. Kortizol.....	54
5.12.2. Regulace HPA osy.....	55
5.12.3. Poruchy sekrece kortizolu.....	56
5.12.4. Metabolismus kortizolu.....	57
5.12.5. Cortisol binding globulin.....	58
5.12.6. Kortizol ve slinách.....	59
<b>6. Cíle práce.....</b>	<b>61</b>
6.1. Cíle 1. části práce.....	61
6.2. Cíle 2. části práce.....	62
<b>7. Metodologie.....</b>	<b>64</b>
7.1. Metody použité pro hodnocení poruchy funkce hypofýzy po chirurgickém ošetření chronického subdurálního hematoma.....	64
7.1.1. Klinické hodnocení.....	64
7.1.2. Zhodnocení nálezů zobrazovacích metod.....	64
7.1.3. Endokrinologické vyšetření.....	64

7.1.4. Laboratorní metody.....	65
7.1.5. Hodnocení výsledků testů.....	66
7.2. Metody použité pro srovnání spolehlivosti stanovení kortizolu v séru a ve slinách při ACTH testu.....	66
7.2.1. ACTH test.....	66
7.2.2. Laboratorní metody.....	66
<b>8. Vlastní výsledky výzkumné práce.....</b>	<b>67</b>
8.1. Poruchy funkce hypofýzy u pacientů s chronickým subdurálním hematomem.....	67
8.2. Sérový a slinný kortizol při hodnocení adrenokortikální rezervy pomocí ACTH testu.....	77
<b>9. Diskuze.....</b>	<b>87</b>
<b>10. Závěry.....</b>	<b>90</b>
10.1. Závěry 1. části práce.....	90
10.2. Závěry 2. části práce.....	91
<b>11. Summary.....</b>	<b>92</b>
<b>12. Vlastní publikace autora.....</b>	<b>94</b>
<b>13. Použitá literatura.....</b>	<b>95</b>
<b>14. Přílohy.....</b>	<b>109</b>
14.1. Prohlášení.....	109
14.2. Identifikační záznam.....	110

# 1. Poděkování

Tato práce vznikla na 3. interní klinice 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze v rámci postgraduálního doktorského studijního programu v biomedicíně, v oboru Fyziologie a patofyziologie člověka.

Děkuji především svému školiteli prof. MUDr. Václavu Hánovi, CSc. za odborné vedení studia a všestrannou podporu a pomoc. Také děkuji celé endokrinologické skupině jmenovitě prof. MUDr. Josefu Markovi, DrSc. za cenné připomínky v průběhu přípravy této disertační práce. Poděkování za spolupráci patří také MUDr. Václavu Masopustovi a doc. MUDr. Davidu Netukovi, Ph.D. z Neurochirurgické kliniky 1. LF UK a ÚVN, MUDr. Lubomíru Pekařovi z Neurochirurgické kliniky 3. LF UK a FNKV a MUDr. Robertu Leškovi z Neurochirurgické kliniky dětí a dospělých 2. LF UK a FNM. Děkuji rovněž ing. Martinu Hillovi, DrSc. z Endokrinologického ústavu za pomoc při statistickém zpracování. Poděkování za podporu patří také přednostovi 3. interní kliniky 1. LF UK a VFN prof. MUDr. Štěpánu Svačinovi, DrSc., MBA a všem dalším kolegům z III. interní kliniky, kteří mi pomáhali v odborné přípravě.

V neposlední řadě bych chtěl poděkovat svojí rodině, své manželce a dětem, za podporu a trpělivost.

## 2. Seznam použitých zkratek

ACTH	adrenokortikotropní hormon
ADH	antidiuretický hormon (vasopressin)
ANF	atriální natriuretický faktor
CART	kokainem a amfetaminem regulovaný transkript
CBG	kortizol vázající globulin
CNS	centrální nervový systém
CRH	corticotropin releasing hormon
CT	počítačová tomografie
DI	diabetes insipidus
FSH	folikuly stimulující hormon
ft3	volný trijodthyronin
ft4	volný thyroxin
GALP	galaninu podobný peptid
GCS	Glasgow coma scale
GH	růstový hormon
GHDA	deficit růstového hormonu v dospělosti
GHRH	growth hormone releasing hormone
GnIH	gonadotropin inhibiční hormon
GnRH	gonadotropin releasing hormone
HPA	kortikotropní osa
IL-4	interleukin 4
IL-6	interleukin 6
IL-10	interleukin 10
ITT	inzulinový toleranční test
LH	luteinizační hormon
MR	magnetická rezonance
MSH	melanocyty stimulující hormon
NPY	neuropeptid Y
POMC	proopiomelanokortin
PRL	prolaktin
SAK	subarachnoidální krvácení

SIADH	syndrom nepřiměřené sekrece antidiuretického hormonu
SDH	subdurální hematom
SST	somatostatin
SSTR	receptor pro somatostatin
StAR	steroidogenní akutní regulační (protein)
T3	trijodthyronin
T4	thyroxin
TBI	traumatické poranění mozku
TRH	thyreotropin releasing hormon
TSH	thyreotropní hormon

### 3. Abstrakt

Traumatická poranění mozku představují závažný zdravotní problém. Kromě celé řady dalších komplikací mohou být spojeny s poruchami endokrinních funkcí hypothalamo-hypofyzární jednotky. Cílem naší práce bylo zjistit, zda je chronický subdurální hematom, jako specifický typ traumatického poškození mozku spojen s rizikem rozvoje hypopituitarismu. V prospektivním sledování jsme vyšetřili soubor 49 pacientů krátce po chirurgickém ošetření subdurálního hematomu a následně v odstupu 3 a 12 měsíců a 10 pacientů retrospektivně 12 měsíců po chirurgickém zákroku. Pacienty jsme podrobili sérii vyšetření včetně dynamických testů pro posouzení všech hypofyzárních funkcí.

Poruchu gonadotropní osy jsme zjistili u 9 (25,7 %) vyšetřených jedinců v akutní fázi a u 3 (12 %) odstupu 12 měsíců od operačního zákroku. Porucha sekrece růstového hormonu byla v akutní fázi přítomna u 23 (46,9 %) jedinců. V odstupu 12 měsíců byl deficitu růstového hormonu přítomen u 15 jedinců (46,9 %). Významné poruchy klinicky nejvýznamnějších os, kortikotropní a thyreotropní, jsme v našem souboru nezaznamenali.

Předmětem druhé části práce jsou nové možnosti diagnostiky poruchy adrenokortikotropní osy. Cílem naší práce bylo zhodnotit a porovnat spolehlivost paralelně stanovených koncentrací kortizolu v séru a ve slinách při ACTH testu. Pomocí statistických metod jsme vyhodnotili přesnost obou variant testu. Prokázali jsme dobrou korelaci mezi koncentracemi kortizolu v séru a ve slinách. Dle statistického zhodnocení je stanovení sérového kortizolu díky vyšší variabilitě přesnější, nicméně tento rozdíl není významný z hlediska praktického – pro diagnostiku hypokortikalismu. Potvrdili jsme tak možnost využití této metody jako alternativního postupu, a to zejména v situacích, kdy je koncentrace celkového kortizolu zkreslena například zvýšením (vliv estrogenů) nebo snížením (kritické stavy) vazebné bílkoviny kortizolu – transkortinu, a kdy je třeba hodnotit volnou frakci kortizolu.

**Klíčová slova:** Traumatické poranění mozku, hypopituitarismus, dynamické funkční testy, subdurální hematom, ACTH test, kortizol ve slinách.



## 4. Abstract

Traumatic brain injury represents serious medical problem. Besides various types of complications, endocrine dysfunction of hypothalamo-pituitary units can occur. Aim of our work was to determine whether chronic subdural haematoma, as specific type of traumatic brain injury, is associated with a risk of developing hypopituitarism as well. In a prospective study, pituitary functions in a cohort of 49 patients after surgery for chronic subdural haematoma, were evaluated. Patients were tested for hormonal deficits including dynamic tests, soon after surgery, in 3 and 12 months thereafter. 10 patients were tested retrospectively 12 months after surgery.

Gonadotropic axis was impaired in 9 patients (25,7 %) in acute phase and remained impaired in 3 (12 %) after 12 months. Growth hormone deficiency was present in 23 (46,9 %) patients during the acute phase and in 15 (46,9 %) patients in evaluation 12 months after the surgery. Serious hormonal deficiencies due to impairment of the most important axes (HPA and thyrotropic) were not proved in our patients.

The second part of this work is devoted to the novel methods in diagnostic assessment of hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. Aim of our work was to evaluate and compare reliability of cortisol measurements in serum and saliva simultaneously during the stimulation test with ACTH. We evaluated the accuracy and reliability of both methods. Serum cortisol proved to be more reliable due to its significantly higher variability in comparison to the salivary cortisol. Regardless of the statistical significance of the difference the salivary cortisol measurement is an acceptable method and for certain situations is irreplaceable. That is in situations where free cortisol needs to be evaluated, like in situations with elevated (effect of estrogens) or reduced (critical states) cortisol binding globulin which distorts serum cortisol levels.

**Key words:** Traumatic brain injury, hypopituitarism, dynamic endocrine tests, subdural haematoma, ACTH test, salivary cortisol.

## 5. Úvod

Hypopituitarismus je definován selháním produkce jednoho či několika hormonů adenohipofýzy. Snížená či chybějící produkce antidiuretického hormonu vede k rozvoji diabetes insipidus centralis. Od r. 1918 je známo, že příčinou hypopituitarismu může být úraz hlavy – traumatické poranění mozku. Přesto až v posledních letech se dostalo této problematice zasloužené pozornosti. Řada studií prokázala souvislost mezi kraniocerebrálním traumatem a možným rozvojem poruchy funkce hypofýzy.

Chronický subdurální hematom představuje specifický typ kraniocerebrálního poranění s vyšší prevalencí u starších osob. Vzhledem k tomu, že často dochází k tlaku hematomu na mozek s přesunem středočárových struktur včetně hypothalamu přes střední linii s možností poškození stopky hypofýzy, cévního zásobení hypofýzy v oblasti diafragmatu selly, lze předpokládat poškození hypofyzárních funkcí. Dle dostupných databází vědeckých prací nebyla dosud tato problematika zkoumána.

Druhá část této práce je věnovaná problematice nových laboratorních metod stanovování kortizolu resp. jejich aplikace v dynamických funkčních testech. Konkrétně jsem se věnoval srovnání spolehlivosti kortizolu ve slinách a v séru stanovovaného v diagnostice hypokortikalismu pomocí ACTH testu.

Výsledky práce byly publikovány v časopisech s impakt faktorem a byly prezentovány na českých i zahraničních kongresech.

Zkušenosti získané v rámci mé práce přispěly k zavedení metody stanovení slinného kortizolu do klinické praxe ve Všeobecné fakultní nemocnici v Praze.

### 5.1. Hypothalamo – hypofyzární jednotka

Sekrece hormonů předního laloku hypofýzy je regulována tzv. releasing hormony (faktory) produkovány v hypothalamu. Proto je používán termín hypothalamo-hypofyzární funkční jednotka jako vyjádření propojenosti těchto dvou anatomicky oddělených, ale funkčně propojených orgánů.

Anatomické propojení hypothalamu a hypofýzy bylo podrobně popsáno Berkelym v 19. století. Podrobný popis cévního spojení včetně popisu portálního

řečiště mezi hypothalamem a hypofýzou pochází z roku 1933 od autorů Popa a Fieldinga. Schrager jako první v roce 1928 přišel s hypotézou o regulaci hypofýzy hormony produkovanými neurony hypothalamu. Tuto myšlenku dále rozvinul a prokázal Geoffrey Harris, který na králičím modelu dokázal, že vysoce selektivní elektrická stimulace hypothalamu a nikoliv hypofýzy, jejíž přítomnost je ale nezbytná, vede k indukci ovulace (Harris, 1948).

## 5.2. Hypothalamus

Hypothalamus je jedna z hlavních struktur diencephalon lokalizovaná na spodině mozku pod thalamem a nad hypofýzou. Průměrné rozměry hypothalamu jsou 15 mm kraniokaudálně, 15 mm anteroposteriorně a 13 mm v transverzálním rozměru. Váha hypothalamu činí asi 2,5-5 g, objem představuje asi 1 % z objemu mozku. Hypothalamus je orgán tvořený těly neuronů vytvářející jádra, která je možné rozdělit do tří skupin: periventrikulární, laterální a mediální. Alternativní rozdělení rozlišuje 4 zóny: preoptickou, supraoptickou, tuberální a mamilární. Hypothalamus je propojen řadou aferentních a eferentních drah s kůrou mozkovou a mozkovým kmenem.

Kromě řízení funkce neurohypofýzy a adenohypofýzy je hypothalamus zapojen do regulace tělesné teploty, příjmu potravy, cyklu spánku a bdění a regulace cirkadiálního rytmu. Je také zapojen do regulace autonomního nervového systému - integrace sympatiku a parasympatiku a do regulace vyjadřování emocí a chování.

Jádra zapojená do regulace funkce hypofýzy jsou lokalizována zejména v mediální části hypofýzy. Většina jader je schopná produkovat několik typů hormonů a většina hormonů může být syntetizována v několika jádrech.

## 5.3. Hypofýza

Lidská hypofýza je tvořena dvěma laloky s rozdílným embryonálním původem – adenohypofýzou vznikající z výchlípky orálního ektodermu (Ratkeho výchlípka) a neurohypofýzou vznikající z neuroektodermu. U dospělého jedince váží cca 0,6 g (0,4-0,9 g). Rozměry činí cca 13 mm transversálně, 6-9 mm kraniokaudálně a 9 mm anteroposteriorně. Na povrchu je hypofýza kryta výchlípkou dura mater

a lokalizována je v tureckém sedle. Kraniálně je hypofýza chráněna před tlakem mozkomíšního moku durou mater - diaphragma sellae, kterou v centrální části prochází stopka. Kraniálně nad hypofýzu se nachází chiasma opticum a laterálně se nachází kavernózní splavy s probíhajícími hlavovými nervy (n. III., IV., V1, V2 a VI.)

Hypofýza má bohaté cévní zásobení z několika zdrojů. Horní hypofyzární tepna odstupuje z arteria carotis interna a zásobuje hypothalamus, kde v eminentia mediana vytváří, mimo hematoencefalickou bariéru, síť kapilár. Dlouhé i krátké hypofyzární portální cévy vycházejí z infundibulární pleteně. Společně pak vytvářejí hypothalamické portální řečiště preferenčně zásobující přední lalok hypofýzy. Tak je zajištěn transport hypofyzárních hormonů k cílovým buňkám bez diluce v systémovém řečišti. Transport hormonů cévami může být lokálně regulován kontraktinými vnitřními kapilárami pleteně (gomitoli) vycházející z infundibulárních větví (stalk branches) horní hypofyzární arterie. Kromě toku krve ve směru z hypothalamu do hypofýzy dochází také k retrográdnímu toku do eminentia mediana usnadňující oboustrannou interakci mezi hypothalamem a hypofýzou. Zadní lalok hypofýzy je zásobován převážně dolní hypofyzární arterií.

## 5.4. Adenohypofýza

Přední lalok hypofýzy, adenohypofýzu, dělíme na pars distalis (glandularis) představující asi 80 % objemu předního laloku hypofýzy, dále pars intermedia a pars tuberalis. Pars intermedia, nacházející se mezi pars distalis a tuberalis, je u člověka (na rozdíl od jiných živočišných druhů) rudimentární. Z hlediska zastoupení jednotlivých buněk jsou nejpočetněji v hypofýze zastoupeny buňky tvořící růstový hormon - somatotropní buňky, lokalizované zejména v laterálních částech předního laloku, následované prolaktin produkujícími buňkami (laktotropní buňky) představující asi 15 % buněk adenohypofýzy. Ty jsou ve větší míře zastoupené v posteromediální a posterolaterální části adenohypofýzy. Kortikotropní buňky syntetizující proopiomelanokortin (POMC), který je prekurzorem ACTH, melanokortinu (MSH), lipotropního hormonu a endorfinů, tvoří asi 15 % buněk adenohypofýzy a nachází se zejména v centrální části. Kortikotropní buňky jsou převažujícími buňkami intermediálního laloku. Buňky produkující gonadotropiny jsou rozvrstveny disperzně v celé hypofýze s predilekční lokalizací v pars tuberalis. Thyreotropní buňky jsou

početně nejméně zastoupenými a představují pouze cca 5 % buněk adenohipofýzy. Lokalizovány jsou v anteromediální části hypofýzy. Kromě toho obsahuje hypofýza řadu podpůrných buněk (folikulární buňky obklopující folikuly), agranulární foliculostellatae, onkocyty a také nediferencované (null) buňky.

## 5.5. Regulační mechanismy hypothalamo-hipofyzární jednotky

Hypothalamo-hipofyzární jednotka je zodpovědná za odpověď organismu na řadu cirkadiálních, pulsatilních či cerebrálních podnětů, resp. za jejich převod do humorální odpovědi organismu. Regulace probíhá v zásadě na třech úrovních:

1. na hypofýzu působící releasing a inhibiční hormony hypothalamu,
2. intrapituitární hormony, cytokiny a růstové faktory působící parakrinně a autokrinně,
3. negativní zpětná vazba - suprese hypothalamu a hypofýzy vlivem hormonů produkovaných cílovými orgány (hypofýzou či periferními žlázami).

### 5.5.1. Thyreotropní osa

Nejsilnějším endogenním stimulem thyreotropní osy je tripeptid TRH secernovaný TRH-neurony v paraventriculárním jádru (Dyess, 1988). Receptor pro TRH (u savců existují dva typy receptorů pro TRH – TRH-R1 a TRH-R2, přičemž u člověka byl prokázán pouze TRH-R1 (Sun et al., 2003) je exprimován kromě adenohipofýzy také v neuroendokrinních oblastech mozku, v autonomním nervovém systému a v mozkovém kmeni. Exprese TRH receptoru v adenohipofýze je regulována thyreoidálními hormony (Mori et al., 1988). TRH indukuje uvolnění a syntézu TSH a ovlivňuje také bioaktivitu TSH ovlivněním jeho glykosylace (Chiamolera et Wondisdorf, 2009). Prostřednictvím TSH dochází ke zvýšení sekrece thyroxinu (T4) štítnou žlázou, který je pak následně dejodázami konvertován na trijódthyronin (T3).

Regulace sekrece TRH je řízená zejména thyreoidálními hormony: T4 je vycitán epiteliálními buňkami plexus chorioideus v postranních mozkových

komorách, kde je navázán na transthyretin (T4-binding prealbumin) a přes hematoencefalickou bariéru je pak uvolňován do mozkomíšního moku. V paraventriculárních jádrech pak prostřednictvím dejodázy II. typu dochází ke konverzi T4 na T3, který působí na receptory na buňkách produkujících TRH. Tímto mechanismem vzniká 80 % T3, který působí na TRH produkující buňky a pouze zbývajících 20 % T3 působícího na paraventriculární jádra pochází z periferní krve a přestupuje hematoencefalickou bariérou (Lechan et Fekete, 2005; Fekete et Lechan, 2007). Dejodáza II. typu přítomná v tanocytech 3. komory je tak hlavním regulátorem přítomnosti T3 v hypothalamické oblasti (paraventriculárního jádra) a hraje tak klíčovou roli v regulaci produkce TRH. Hladovění a infekce vedou k lokálnímu zvýšení dejodázy II. typu v tanocytech s následným vzestupem lokální koncentrace T3. Důsledkem je pokles hladin TSH pozorované při hladovění či vážných infekcích (Fekete et Lechan, 2007).

K faktorům zvyšujících sekreci TRH patří chlad, deprese, norepinefrin, CART (cocain and amphetamin regulated transcript), alfa MSH, leptin. Produkci TRH snižuje vysoká teplota, fyzická aktivita, somatostatin, dopamin a neuropeptidy.

### 5.5.2. Kortikotropní osa

Hlavním regulátorem kortikotropní osy je kortikotropin releasing hormon (CRH). Pre-prohormon CRH je syntetizován parvocellulárními neurony paraventriculárních jader spolu s ADH, enkephalinem a neurotensinem.

Existují dva základní typy CRH receptoru. CRH-R1 je hlavním receptorem kortikotropních buněk hypofýzy. Kromě toho je také exprimován ve dřeni nadledvin a v zóně reticularis a fasciculata kůry nadledvin (Tsatsanis et al., 2007). CRH-R2 je exprimován v hypothalamu, hippocampu, mozkovém kmeni, srdci, plicích, kosterních svalech a gastrointestinálním traktu. Exprimován je i v nadledvinách a to především v kůře (Tsatsanis et al., 2007).

Účinek CRH na hypofýzu je modifikován CRH binding proteinem. Ten se na CRH rychle a dočasně naváže a inhibuje jeho působení na receptorech. Po podání CRH dochází k rychlému vzestupu ACTH - maxima je dosaženo asi po 30 minutách a sekrece kortizolu dosahuje maxima asi po 60 minutách po aplikaci CRH (Gold et al., 1986). Diurnální sekrece ACTH je řízená prostřednictvím CRH (Kling et al., 1994).

CRH produkující neurony podléhají širokému spektru stimulačních a inhibičních vlivů z periferie i z centrální úrovně (nervovou regulací z hypothalamu, limbického systému a mozkového kmene). Hlavním regulátorem sekrece CRH jsou, prostřednictvím negativní zpětné vazby, glukokortikoidy, které se vážou na glukokortikoidní receptory typu I. či II. Glukokortikoidy inhibují expresi genu pro CRH a rychlost sekrece CRH. Kromě vlivu glukokortikoidů se předpokládá nervová regulace sekrece CRH aferentními drahami se synapsí s CRH produkujícími neurony (Watts, 2005). Neurotransmitery působící přes glutamátové receptory stimulují (Durand et al., 2008) a GABAergní inhibují sekreci CRH (Kovacs et al., 2004). Sekrece CRH je dále významně ovlivňována řadou cytokinů a neurotransmiterů. Při zánětu dochází k uvolňování CRH vlivem IL-1, TNF alfa, a IL-6 produkovanými leukocyty.

Na regulaci sekreci CRH má vliv i somatostatin, který inhibuje sekreci CRH (Liao et al., 1992) a katecholaminy vč. dopaminu, které zvyšují expresi CRH (Eaton et al., 1996).

Sekrece ACTH je také řízena cirkadiálními rytmy. Maxima dosahuje sekrece v ranních hodinách před a při probuzení.

### 5.5.3. Gonadotropní osa

Gonadotropin releasing hormon (GnRH) je hypothalamický neuropeptid regulující produkci gonadotropních hormonů (luteinizačního hormonu LH a folikuly stimulujícího hormonu FSH) hypofyzárními gonadotropními buňkami. U savců je GnRH kódován dvěma geny (GnRH-I na chromosomu 8 a GnRH-II na chromosomu 20) (Lee et al., 2008). V mozku a hypothalamu člověka je dominantně přítomný GnRH-I. GnRH-II je exprimován mimo CNS.

Těla neuronů produkujících GnRH nevytvářejí v hypothalamu jádra, ale jsou difusně rozmístěna zejména v medio-bazální části hypothalamu, infundibulární a periventriculární oblasti. Navzájem jsou neurony propojeny a vytvářejí generátor pulsní sekrece GnRH (Krsmanovic et al., 2009). Axony GnRH produkujících neuronů končí zčásti v portálním řečišti hypofýzy a zčásti také v neurohypofýze.

Na rozdíl od ostatních neuronů produkujících hypofyzární tropní hormony nemají neurony produkující GnRH původ v CNS a do hypothalamu migrují pod vlivem chemotaktických molekul podél nervových buněk a glií. GnRH produkující

buňky jsou pravděpodobně původně buňkami z čichové plakody – tento fakt je podporován klinickým obrazem Kallmannova syndromu charakterizovaného poruchou čichu a centrálním hypogonadismem podmíněným chyběním GnRH produkujícími buňkami.

Hladiny GnRH ovlivňují expresi receptorů pro GnRH – v situacích charakterizovaných nízkými hladinami GnRH dochází k poklesu exprese GnRH receptoru a naopak expozice gonadotropních buněk působení GnRH vede k up-regulaci GnRH receptoru na buněčné membráně. Dlouhodobě chybějící stimulace GnRH pak vyžaduje období primingu hypofýzy opakovanými pulsy GnRH k dosažení optimální senzitivity. Vystavení kontinuální přítomnosti GnRH vede k down-regulaci receptorů pro GnRH jejich internalizaci a degradaci a také vede k desenzitizaci na působení GnRH (Melmed, 2011).

Pulsní sekrece GnRH je regulována vnitřními a vnějšími regulačními mechanismy. Frekvence sekrečních pulsů GnRH ovlivňuje pulsni sekreci LH/FSH, poměr mezi LH a FSH a stupeň glykosylace gonadotropinů, která má vliv na jejich stabilitu v cirkulaci (brání jejich degradaci v játrech, ale zároveň snižuje jejich účinnost). LH na rozdíl od FSH lépe kopíruje pulsni sekreci GnRH.

Sekrece GnRH je regulována řadou působků s parakrinním či autokrinním působením. Kisspeptin tvořený v kisspeptin produkujících neuronech v hypothalamu působí na Kiss receptory na neuronech produkujících GnRH a reguluje jejich funkci. Kisspeptin zvyšuje amplitudu a trvání pulsů GnRH a GnRH naproti tomu inhibuje sekreci kisspeptinu. Galanin-like peptid (GALP) přímo stimuluje sekreci GnRH a je závislý na přítomnosti estradiolu. Jak GALP tak kisspeptin produkující neurony mají receptory pro leptin a jsou leptinem stimulovány, což je pravděpodobně mechanismus, jakým se na regulaci funkce gonadotropní osy uplatňuje stav výživy (Crown et al, 2007).

Vliv pohlavních hormonů na sekreci GnRH je převážně nepřímý – receptory pro ně se nacházejí na neuronech, které mají s neurony produkujícími GnRH četné synapse (Krsmanovic et al., 2009). Vliv estradiolu na sekreci LH/FSH je zejména na úrovni hypofýzy zatímco vliv progesteronu a testosteronu se uplatňuje zejména na hypothalamické úrovni (Plant, 1986). Estradiol je zpětnovazebným mechanismem ovlivňujícím sekreci GnRH zodpovědný za preovulační peak LH, a to jednak zvýšením jeho sekrece a jednak zvýšením exprese receptorů pro GnRH na povrchu gonadotropiny produkujících buněk. Mechanismus jakým dochází k přesmyku mezi



stimulačním a inhibičním efektem estradiolu není zcela jasný, ale pravděpodobně se zde uplatňují aferentní signály z neuronů citlivých na estradiol, které regulují GnRH produkující buňky.

Stimulační efekt na GnRH produkující buňky mají dále katecholaminy, neuropeptid Y, neurotensin (Smith et Jennes, 2001), glutamát a aspartát. Noradrenergní a adrenergní neurony stimulují jak pulsní tak preovulační sekreci GnRH, a to zejména přes alfa-1 adrenergní receptor (Melmed, 2011).

Inhibiční vliv mají (přes inhibici stimulačního vlivu estrogenů) endogenní opioidy a GABA (Smith et Jennes, 2001).

Nedávno byla u lidí prokázána existence gonadotropin inhibičního hormonu (GnIH) (3 formy), přičemž receptory pro něj byly prokázány na neuronech produkujících GnRH v eminentia mediana (Oishi et al., 2012). GnIH kromě vlivu na sekreci GnRH zasahuje také do regulace chuti k jídlu a energetického metabolismu (Smith et Clarke, 2010).

Řada fyzikálních a psychologických faktorů ovlivňuje aktivitu GnRH neuronů – hladovění, intenzivní cvičení, extrémní teploty, bolest, úraz, infekce. Např. u žen věnujících se vrcholovému sportu dochází k supresi gonadotropní osy – hovoříme o funkční hypothalamické amenoree.

#### 5.5.4. Sekrece GH

GHRH produkující neurony se nacházejí v nucleus arcuatus a v okolí ventromediálního jádra. GHRH působí na syntézu a uvolňování GH a vede také ke zvýšené proliferaci somatotropních buněk. Stimulace GHRH je potencována estrogeny, glukokortikoidy a hladověním, a naopak tlumena somatostatinem, obezitou a věkem. Kromě proliferace somatotropních buněk může stimulace GHRH produkujících buněk vést až k jejich neoplastické transformaci (vznik adenomu) (Frohman et Kineman, 2002). Regulace GHRH je řízena zejména vlivem GH a pravděpodobně také IGF-1 na sekreci somatostatinu. Nepřímo pak také působením na GHRH produkující neurony.

Zvýšená koncentrace GH vede ke zvýšené sekreci somatostatinu z eminentia mediana a následně k inhibici sekrece GH. IGF-1 inhibuje sekreci GH přímým působením na hypofýzu (Yamashita et al. 1986) a také na úrovni hypothalamu (Müller et al., 1999). Na regulaci sekrece GH se podílí také celé řada dalších faktorů,

přičemž u některých je těžké říci, zda působí na úrovni hypofýzy, či je jejich efekt zprostředkován ovlivněním sekrece GHRH, resp. somatostatinu. Na myších modelech byl prokázán stimulační efekt galaninu, ghrelinu a melatoninu na sekreci GH, a naopak inhibiční vliv kalcitoninu, neuroeptidu Y a CRH (Melmed, 2011).

Rozdílný efekt na sekreci GH mají, podle typu stimulovaného receptoru, katecholaminy: stimulací beta receptoru dochází prostřednictvím aktivace somatostatin produkujících neuronů k inhibici sekrece GH. Naproti tomu aktivace alfa-2 receptoru vede ke zvýšení sekrece GH, a to duálním efektem – stimulací sekrece GHRH a inhibicí sekrece somatostatinu (Martin, 1973).

Významně se na regulaci sekrece růstového hormonu podílí somatostatin. Somatostatiny (existující ve variantě somatostatin 14 a somatostatin 28) jsou cyklické polypeptidy, přičemž přítomnost somatostatinu 14 byla prokázána hlavně v CNS zatímco somatostatin 28 se uplatňuje zejména v gastrointestinálním traktu. Kromě inhibice sekrece GH inhibuje také sekreci TSH, ACTH a dalších centrálních i periferních hormonů. V některých tkáních má somatostatin jak inhibiční tak stimulační účinky. Somatostatin 14 je syntetizován zejména v předním periventrikulárním a ventromediálním jádru a v nucleus arcuatus. Tyto neurony mají axony končící v eminentia mediana a v portálním hypofyzárním řečišti, odkud se dostává jimi secernovaný somatostatin k buňkám předního laloku hypofýzy. Kromě inhibice sekrece hypofyzárních hormonů inhibuje somatostatin také proliferaci buněk hypofýzy. Na úrovni hypothalamu inhibuje somatostatin uvolňování řady hypothalamických hormonů (CRH, TRH, dopaminu a GHRH) (Zheng et al., 1997) a má i autoregulační funkci – zpětnou vazbou inhibuje sekreci somatostatinu z periventrikulárních jader (Patel, 1999). Na úrovni hypofýzy inhibuje sekreci GH, ACTH, TSH.

Existuje 5 popsaných subtypů somatostatinových receptorů (SSTR-1 - 5), přičemž somatostatin 14 má největší afinitu k SSTR-2, který je rozhodující mírou zodpovědný za regulaci sekrece hypofyzárních hormonů somatostatinem.

Sekrece SST je stimulována GHRH, CRH, bombesinem, GH, IGF-1, estrogeny, testosteronem, thyroxinem, inzulinem, glukagonem a řadou cytokinů (IL-1, IL-6, IL-10, IFN-gama a TNF-alfa). Inhibičně na SST produkující buňky naopak působí opiáty, GABA, leptin a glukóza. Glukokortikoidy v nízkých dávkách sekreci SST stimulují, ve vysokých naopak inhibují (Patel, 1999).

Regulaci podléhá také exprese somatostatinových receptorů. Ke zvýšené expresi SSTR-2 dochází při dlouhodobé expozici somatostatinu, GHRH, testosteronu a při krátkodobém působení kortikoidů, a naopak k down-regulaci vede ghrelin a dlouhodobá expozice kortikoidům. SSTR-5 je up-regulován vlivem somatostatinu a thyroxinu a down-regulován je GHRH, ghrelinem a estrogeny (Ben-Shlomo et Melmed, 2010).

### 5.5.5. Sekrece prolaktinu

Produkce prolaktinu je inhibována tonickou sekrecí dopaminu, která pokud je vyřazena (např. při poškození stopky hypofýzy), vede k nadprodukci PRL. Hlavním zdrojem dopaminu působícího v adenohipofýze jsou tuberoinfundibulární dopaminergní neurony. Dopamin kromě regulace sekrece PRL ovlivňuje také melanocyty stimulující hormon (MSH). Inhibuje jeho uvolnění z melanotropních buněk v intermediálním laloku.

Dopamin se na hypofyzárních laktotropních buňkách váže na dopaminový receptor subtyp 2 a inhibuje sekreci PRL a proliferaci laktotropních buněk. D2 receptor je asociován s G proteinem a jeho aktivace vede k influxu kalia do buňky a poklesu intracelulární koncentrace kalcia, čímž dochází ke snížení sekrece PRL (Vallar et Meldolesi, 1989). Kromě dopaminu, který je považován za hlavní regulační hormon sekrece PRL, se na regulaci produkce PRL podílí také GABA, somatostatin a kalcitonin (Freeman et al., 2000).

Kromě nepřítomnosti dopaminu je sekrece PRL stimulována také TRH, oxytocinem, ADH, vasoaktivním intestinálním peptidem, angiotensinem II, neuropeptidem Y, galaninem, substancí P, a dalšími faktory.

Receptory pro prolaktin jsou přítomny na všech dopaminergních neuronech, které dodávají dopamin do hypofýzy a umožňují tak zpětnovazebnou regulaci. Kromě toho vyšší hladina PRL zvyšuje expresi tyrosin-hydroxylázy, což zvyšuje expresi dopaminu a vede ke snížení sekrece PRL.

Estrogeny zvyšují sekreci prolaktinu snížením dopaminergních receptorů na laktotropních buňkách (Toney et al., 1992). Dlouhodobá léčba estrogeny, podobně jako placentární laktogen, redukuje hladinu tyrosin-hydroxylázy a obsah dopaminu v dopaminergních neuronech.

Dopaminergní neurony jsou dále stimulovány acetylcholinem, glutamátem a opioidy a naopak inhibovány stresem, vysokými hladinami glukokortikoidů a histaminem. Jsou dále ovlivněny působením světla – tento regulační mechanismus je zodpovědný za diurnální variabilitu sekrece PRL.

## 5.6. Neurohypofýza

Hypothalamus obsahuje jádra, která tvoří dno a laterální stěny třetí komory (která má trojúhelníkový tvar). V přední stěně je lokalizována struktura zvaná organum vasculosum, která obsahuje buňky mající funkci osmoreceptoru. V této struktuře, podobně jako v nucleus supraopticus, chybí hematoencefalická bariéra.

Hypothalamická jádra (nucleus supraopticus a paraventricularis) obsahují perikarya velkobuněčných neuronů. Axony těchto buněk vytvářejí supraoptickou hypofyzární dráhu vedoucí do zadního laloku hypofýzy. Část buněk těchto jader exprimují gen pro ADH, část pro oxytocin. Kromě terminálních částí těchto axonů je neurohypofýza tvořena gliím podobnými buňkami – pituicyty.

Kromě uvedeného transportu ADH do zadního laloku hypofýzy je zde přítomna sekundární dráha transportující z malobuněčných neuronů ADH ve vysokých koncentracích do portálního systému adenohypofýzy, kde působí synergicky s CRH a stimuluje tak sekreci ACTH z kortikotropních buněk adenohypofýzy. Cca 50 % malobuněčných neuronů produkuje kromě ADH také CRH. Kromě toho dochází při průchodu eminentia mediana k prostupu ADH z axonů velkobuněčných neuronů do portálního systému hypofýzy.

ADH (antidiuretický hormon, vasopressin) je bazický nonapeptid, jehož prekurzor je tvořen v hypothalamických jádrech a transportován axony do zadního laloku hypofýzy. Interval mezi syntézou prohormonu a jeho uvolněním do oběhu je asi 90 min. Poločas ADH v oběhu je krátký: 5-15 min., přičemž jeho clearance je nezávislá na jeho koncentracích v plasmě. K degradaci ADH dochází v játrech a ledvinách.

V regulaci vodního hospodářství se uplatňují osmoreceptory umístěné na periférii a v CNS. Periferní osmoreceptory jsou lokalizované v horní části zažívacího traktu a v cévách drenujících střevní sliznici. Tímto způsobem je zajištěna detekce

osmolality pozřené potravy a tekutin a prostřednictvím aferentní dráhy do CNS tak dochází, ještě před změnou osmolality extracelulární tekutiny, k ovlivnění sekrece ADH. Centrálně uložené osmoreceptory jsou, jak ukázala studie s funkční MRI (Morita et al., 2004), lokalizovány v přední části třetí komory a formující zde organum vasculosum laminae terminalis. Změny osmolality zde vedou ke změně polarity na podkladě zmenšení či naopak zvětšení objemu buněk vlivem změny extracelulární osmolality.

Studiemi na dvojčatech (jednovaječná vs. dvojvaječná) bylo prokázáno, že senzitivita osmoreceptoru je do značné míry podmíněna geneticky (Zerbe et al., 1985).

Kromě regulace osmolality je sekrece vazopressinu regulována i přes baroreceptory lokalizované v levé síni, sinus caroticus a aortálním oblouku. Zvýšený krevní tlak v daných lokalizacích vede k inhibici sekrece ADH a naopak.

Existuje několik typů receptorů pro ADH: V1a, V1b a V2. Receptor V1a je lokalizován převážně v cévách, játrech a mozku, V1b v adenohipofýze a V2 v ledvinách. Subtyp V2 je v posledních letech cílem pro farmakologické ovlivnění (vaptany).

## 5.7. Hypopituitarismus

### 5.7.1. Definice

Hypopituitarismus vzniká selháním produkce jednoho či několika hormonů předního laloku hypofýzy (adenohipofýzy). Příčina může být na úrovni hypothalamu, stopky hypofýzy či samotné hypofýzy. Hypopituitarismus je asociován se zvýšenou morbiditou a jak bylo dokázáno epidemiologickými studiemi (Bates et al., 1996; Tomlinson et al., 2001) i mortalitou. Toto zvýšení mortality bývá přisuzováno zvýšení rizika kardiovaskulárních a cerebrovaskulárních příhod.

### 5.7.2. Epidemiologie

Jedná se o relativně vzácné onemocnění s odhadovanou incidencí mezi 2-6 případy na 100 tis. obyvatel za rok. Prevalence se odhaduje na 29-45 případů na 100 tis. obyvatel (Regal et al., 2001).

### 5.7.3. Etiopatogeneze

Příčina poruchy funkce hypofýzy může být organická či funkční. Výčet nejčastějších příčin hypopituitarismu je uveden v tabulce č. 1.

Tab č. 1 Přehled příčin hypopituitarismu. Podle Melmed, 2011.

<b>Neoplasie</b>	Adenom hypofýzy
	Karcinom hypofýzy
	Kraniofaryngom
	Pituicytom
	Fibrom
	Gliom
	Meningeom
	Paragangliom
	Teratom
	Chordom
	Angiom
	Ependymom
	Sarkom
	Germinom
	Cysty (Ratkeho, arachnoideální, epidermoidní, dermoidní)
	Ganglioneurom
	Metastáza (karcinom prsu, plic, tlustého střeva, prostaty)
<b>Léčba onemocnění sellární parasellární či hypothalamické oblasti</b>	Chirurgická
	Radioterapie
<b>Infiltrativní onemocnění</b>	Autoimunitní – lymfocytární hypofyzitida
	Granulomatózní (sarkoidóza, histiocytóza, obrovskonuněčný granulom, granulomatózní hypofyzitida, xantomatózní hypofyzitida, Wegenerova granulomatóza)
<b>Empty sella</b>	
<b>Vaskulární</b>	Apoplexie do tumoru
	Sheehanův syndrom
	Aneurysma a. carotis int. v oblasti selly
	Subarachnoidální krvácení
<b>Genetická příčina</b>	Kombinovaný či izolovaný deficit
<b>Vývojová porucha</b>	Porucha vývoje středočárových struktur mozku či lebky
	Hypoplasie či aplasie hypofýzy
	Ektopie hypofýzy
<b>Trauma</b>	Perinatální
	Kraniocerebrální trauma
<b>Infekce</b>	Bateriální
	Vírové
	Mykotické
	TBC
	Syphillis
<b>Léky</b>	Opiáty
	Terapie glukokortikoidy
	Megestrol acetát
	Supresivní léčba thyroxinem
	Dopamin
	Steroidy

	GnRH agonisté
Celková onemocnění	Obezita
	Mentální anorexie
	Chronické onemocnění

#### 5.7.4. Klinické projevy hypopituitarismu

Klinická manifestace selhání funkce adenohipofýzy je závislá na tom, jaká osa či osy jsou postiženy, na pohlaví, věku při manifestaci deficitu a komorbiditách.

##### 5.7.4.1. Deficit ACTH

Chronický deficit ACTH se projevuje nespecifickými příznaky: slabost, únava, letargie, nevolnost, bolesti břicha, nechutenství, artralgie, myalgie. Laboratorně se může sekundární hypokortikalismus manifestovat hyponatremií či (vzácněji) sklony k hypoglykemiím. V krevním obraze může být přítomná mírná anemie a neutropenie. Patogenetickými mechanismy vzniku hyponatremie u centrálního hypokortikalismu jsou syndrom nepřiměřené sekrece ADH spojený s nízkými hladinami kortizolu (kompenzační reakce) a porucha exkrece bezsolutové vody spojená s hypokortikalismem. Hypoglykemie vzniká poruchou glukoneogeneze. Díky zachované sekreci mineralokortikoidů je, na rozdíl od primární adrenokortikální insuficience, výskyt významné arteriální hypotenze, s výjimkou akutního stresu, vzácný (Melmed, 2011).

Při parciální poruše sekrece ACTH může být průběh onemocnění asymptomatický a k projevům deficitu může dojít při akutním stresu, kdy se při nerozpoznání deficitu ACTH může onemocnění manifestovat adrenokortikální krizí. Dynamika onemocnění má rovněž vliv na klinickou manifestaci – při postupně se rozvíjející poruše může být pacient oligosymptomatický. Naopak při akutně vzniklé poruše sekrece ACTH, např. při apoplexii do tumoru hypofýzy může být průběh spojený s kardiovaskulárním kolapsem s možnými fatálními následky (Melmed, 2001).

Kromě poruchy sekrece glukokortikoidů je důsledkem poruchy sekrece ACTH i porucha sekrece adrenálních androgenů (androstendion, DHEA, DHEA-S, testosteron) (Miller et al., 2001). U mužů, pokud je zachována sekrece testosteronu, nemá tento deficit klinické projevy. U žen se může chybějící produkce adrenálních androgenů projevovat ztrátou vlasů, únavou, poklesem libida a depresemi (Bachmann et al., 2002).

#### 5.7.4.2. Deficit TSH

Centrální hypothyreóza je svými příznaky prakticky totožná s periferní (primární) hypothyreózou (Alexopoulou et al., 2004). Příznaky jsou únava, spavost, deprese, bradypsychismus, zimomřivost, obstipace, suchá pokožka, vyšší lomivost vlasů, bradykardie, otok obličeje. Laboratorní nálezy při hypothyreóze zahrnují mírnou anemii, zvýšený LDL cholesterol, v některých případech těžšího deficitu můžeme zaznamenat elevaci svalových enzymů (CK, LDH, AST).

#### 5.7.4.3. Deficit LH/FSH

Klinické projevy centrálního hypogonadismu závisí na pohlaví a věku, v kterém došlo k hormonální poruše.

Při vrozeném deficitu gonadotropinů je u mužů typickým nálezem mikropenis a kryptorchismus. Deficit gonadotropinů v prepubertálním období může probíhat bezpříznakově a manifestovat se může až opožděním puberty. K projevům patří krátký penis, malá varlata a menší objem prostaty. Opožděné ukončení růstu může vést k vzniku eunuchoidního habitu s disproporčně dlouhými končetinami.

U dospělých mužů jsou příznaky centrálního hypogonadismu variabilní a nekorelují s hladinou testosteronu v cirkulaci (Layman, 2007). K příznakům centrálního hypogonadismu patří pokles libida, impotence, redukce ochlupení, snížený růst vousů, úbytek svalové hmoty, porucha kostního metabolismu charakteru osteopenie až osteoporózy a atrofie varlat. Při vyšetření spermiogramu zjišťujeme oligo/azoospermii.

Hypogonadotropní hypogonadismus u dívek v prepubertálním období se manifestuje primární amenoreou s poruchou vývoje sekundárních pohlavních znaků. Růst může, ale nemusí být zpomalen.

U dospělých žen vede deficit gonadotropinů k sekundární amenoree spojené s infertilitou a příznaky shodnými s příznaky deficitu estrogenů v (post)menopauze: osteoporóza, snížená lubrikační schopnost vaginální sliznice, dyspareunie, pokles libida a atrofie mléčných žláz. V postmenopauzálním období je deficit gonadotropinů bez klinických příznaků.



#### 5.7.4.4. Deficit GH

Pro vrozený nebo v dětství získaný deficit GH je typický příznakem nízká tělesná výška resp. porucha dynamiky růstu (růstová retardace). Děti s vrozeným deficitem GH mají při narození normální délku a hmotnost a k růstové retardaci dochází až po porodu. Zpomaleno může být prořezávání zubů. Zejména při současně přítomném deficitu ACTH mohou být příznakem opakované hypoglykemie.

Pro deficit GH získaný v dospělosti (GHDA) jsou typické změny těsného složení (zvýšený podíl tukové hmoty a nižší podíl svalové hmoty). K psychosociálním změnám charakteristickým pro GHDA patří snížená vitalita, sklon k sociální izolaci, emoční labilita a deprese. K objektivním nálezům patří nadváha se sklonem k centrální distribuci tuku, snížení svalové síly a fyzické výkonnosti (Caroll et al., 1998).

#### 5.7.5.5. Deficit prolaktinu

Hlavní projevem deficitu prolaktinu je porucha laktace v postpartálním období.

### 5.7.5. Diagnostika hypopituitarismu

Diagnostika hypopituitarismu je založena, kromě zhodnocení klinických příznaků, na laboratorních metodách sloužících k průkazu deficitu hormonů.

Jde v první řadě o stanovení a zhodnocení koncentrací jednotlivých hormonů hypofýzy, resp. jimi regulovaných hormonů v krevních odběrech provedených v ranních hodinách. Takto lze hodnotit osu gonadotropní (stanovením koncentrací LH, FSH a testosteronu či estradiolu), osu thyreotropní (pomocí TSH, volného trijodthyroinu a volného thyroxinu) a sekreci prolaktinu. Pro zhodnocení sekrece ACTH (HPA osy) a zejména pak GH je třeba často provádět dynamické testy se zhodnocením koncentrace kortizolu, resp. růstového hormonu po stimulaci.

#### 5.7.5.1. Dynamické testy pro zhodnocení funkce HPA osy

K zhodnocení funkce kortikotropní osy používáme odběry bazálního kortizolu (ranní odběr okolo 8:00). Dle některých prací hodnota nad 400 nmol/l s velkou pravděpodobností hypokortikalismus vylučuje (Hägg et al., 1987). Za jednoznačně sníženou hodnotu sérového kortizolu v ranních hodinách bývají považovány hodnoty pod 100 nmol/l (Schmidt et al., 2003; Deutschbein et al., 2008), přičemž ale

v kritických stavech někdy hovoříme o neadekvátně nízkých koncentracích kortizolu i při hodnotách vyšších (do 300 nmol/l) (Hannon et al., 2013).

**Inzulinový toleranční test (ITT)** je základním stimulačním testem pro zhodnocení funkce kortikotropní osy. Principem testu je navození hypoglykemie intravenózní aplikací inzulínu. Hypoglykemie vede k vyplavení stresových hormonů (CRH, GH, PRL) – používá se tedy nejen k zhodnocení poruch sekrece kortizolu, ale i k zhodnocení sekrece růstového hormonu. Před zahájením testu se provede kontrola glykemie, která by měla být minimálně 3,3 mmol/l. Následuje odběr krve (0. minuta) a aplikace inzulínu (v dávce 0,05–0,2 jednotky na 1 kilogram tělesné hmotnosti). Poté jsou prováděny odběry na stanovení kortizolu (event. i GH) v 15., 30., 45. a 60. minutě. Dle některých protokolů se provádí odběr i v 90. a 120. minutě. Glykémii kontrolujeme v 10., 20., 30. a 60. minutě testu. Pokud se v průběhu testu objeví příznaky neuroglykopenie, provede se odběr krve a neprodleně se podá glukóza (perorálně, resp. při těžším průběhu intravenózně).

U pacientů s předpokládanou výraznou citlivostí na inzulín (dystrofie, renální insuficience) se podává redukovaná dávka (0,05–0,075 IU/kg, u jedinců s předpokládanou inzulínovou rezistencí (obezita, diabetes mellitus, Cushingův syndrom, hypothyreóza se podává dávka vyšší (0,15 IU/kg). Tento test je vzhledem k principu (hypoglykemie) do určité míry rizikový a vyžaduje vyšetření pacienta před testem (mj. EKG, kalemie) a monitoraci pacienta lékařem během testu. Vzhledem k rizikům spojeným s navozením arteficiální hypoglykemie má tento test řadu kontraindikací (ICHS, srdeční vada, srdeční insuficience, arytmie, epilepsie, předpokládaný těžký hypopituitarismus).

K tomu, aby byly výsledky ITT interpretovatelné, je potřeba dosáhnout glykemie pod 2,2 mmol/l. Za fyziologickou odpověď se považuje vzestup koncentrace sérového kortizolu nad 500 nmol/l (Deutschbein et al., 2009).

**ACTH test** je v současnosti v běžné klinické praxi asi nejčastěji používaným testem pro diagnostiku hypokortikalismu. Princip testu spočívá ve stimulaci kůry nadledvin (zona fasciculata) frakcí molekuly ACTH (1–24, tetracosactid).

Provedení testu spočívá v odběru krve před aplikací definované dávky ACTH<sub>1-24</sub> s následným odběrem krve na stanovení sérového kortizolu po 30 a 60 minutách. Některými autory bývá uváděna dostatečná výpovědní hodnota z pouze 1 odběru po 60 minutách (Deutschbein et al. 2009), v jiných pracích byl prokázán maximální vzestup ve 30. minutě testu (Contreras et al., 2004).

Fyziologickou odpovědí je vzestup hladiny sérového kortizolu nad arbitrárně stanovenou hladinu 500 nmol/l (Lindhol et al., 1978). V některých pracích bývá uváděna jako minimální hodnota 550 (Clark et al., 1998) či dokonce 600 nmol/l (Mehta, 2005).

ACTH test je suverénní metodou pro diagnostiku periferního (primárního) hypokortikalismu. Jak prokázaly četné práce (Lindhol et al., 1978; Stewart et al., 1988), lze tento test použít i pro diagnostiku sekundárního hypokortikalismu. Mechanismem, kterým je vysvětlována aplikovatelnost ACTH testu v této indikaci, je předpokládaná atrofie kůry nadledvin, k níž dochází po určitou dobu trvajícím deficitu ACTH (obvykle bývá uváděn interval mezi vznikem deficitu ACTH a nástupem insenzitivity kůry nadledviny na exogenní ACTH v rozmezí 4–12 týdnů (Inder et Hunt, 2002; Kloose et al., 2005). Tento test je používán v řadě modifikací lišících se v dávce používané ke stimulaci (1, 10, 25 či 250 mikrogramů tetracosactidu) či ve způsobu aplikace (intravenózní či intramuskulární podání). Kromě měření kortizolu v séru lze použít i stanovení kortizolu ve slinách, což přináší výhody dané tím, že koncentrace slinného kortizolu odráží hladinu volného kortizolu v krvi.

Principem **testu s metyraponem** je navození blokády 11 $\beta$ -hydroxylázy v kůře nadledvin, což vede k poruše konverze 11-deoxykortizolu na kortizol. V důsledku toho dochází k vzestupu sekrece ACTH s následnou stimulací kůry nadledvin. Provedení testu spočívá v podání metyraponu v dávce 30 mg/kg tělesné hmotnosti o půlnoci s odběrem krve následující den ráno v 8:00. Pro správnou interpretovatelnost je třeba potvrdit pokles sérového kortizolu pod 200 nmol/l). Adekvátní funkce kortikotropní osy je potvrzena při vzestupu hladiny sérového 11-deoxykortizolu nad 200 nmol/l a vzestupu ACTH nad 200 pg/ml (= 33 pmol/l). Vzhledem k riziku vyvolání hypokortikální krize je tento test kontraindikován při hodnotě ranního sérového kortizolu pod 200 nmol/l). Limitujícími faktory pro provádění tohoto testu v běžné praxi je kromě komplikované dostupnosti metyraponu i problematická dostupnost stanovení 11-deoxykortizolu v séru.

**Test s glukagonem** je používán jako alternativní test k ITT – zejména pokud je ITT kontraindikován. Je používán k průkazu deficitu GH i kortizolu. Mechanismus, kterým glukagon působí vzestup těchto hormonů, není zcela jasný. Dle některých pramenů jde o stimulaci prostřednictvím stimulace sekrece noradrenalinu (Partsch et al., 2008.) Provedení testu spočívá v subkutánní či intramuskulární aplikaci 1 mg glukagonu (1,5 mg při tělesné hmotnosti nad 90 kg).

Odběry krve na stanovení GH se provádějí před aplikací a dále za 90, 120, 150, 180, 210 a 240 minut. K maximálnímu vzestupu GH i kortizolu dochází obvykle ve 120–180 min. po aplikaci. Někteří autoři proto zpochybňují nutnost provádění odběrů ve 4. hodině (Leong et al., 2001; Berg et al., 2010). Glukagonový test při srovnání s inzulínovým testem prokázal spolehlivost pro diagnostiku deficitu GH, ale špatnou spolehlivost při užití pro diagnostiku hypokortikalismu (Karace et al., 2011; Berg et al., 2010).

Test s glukagonem má minimum kontraindikací a bývá obvykle dobře snášen. Jediným častějším nežádoucím účinkem je nausea a vomitus. Glukagonový test existuje ve variantně s podání betablokátoru (glukagon-propranololový test), kdy je alfa-adrenergní stimulace glukagonu zvýrazněna beta-blokádou.

#### 5.7.5.2. Dynamické testy pro hodnocení sekrece GH

**Inzulínový toleranční test** je stejně jako v diagnostice hypokortikalismu i v indikaci diagnostiky poruch sekrece GH „zlatým standardem“. Při arteficiálně navozené hypoglykémii dochází kromě vyplavování kortizolu a dalších stresových hormonů i ke zvýšené sekreci růstového hormonu. Aby bylo možné výsledky testu správně interpretovat, je třeba, aby bylo dosaženo poklesu glykemie pod 2,2 mmol/l. Normální odpovědí u dospělých je vzestup hladiny růstového hormonu nad 5,1 mcg/l, u dětí pak 10 mcg/l. Nižší hodnoty prokazují deficit GH, pokud je maximální dosažená hodnota GH pod 3 mcg/l hovoříme o těžkém deficitu GH (tato hodnota je v Evropě považována za cut-off hodnotu pro zahájení substituce růstovým hormonem v dospělosti). Uváděné hodnoty cut-off hodnot pro diagnostiku deficitu GH platí pro ITT a u testů s alternativní stimulační látkou se mohou, dle rozdílné síly stimulace, tyto normy lišit.

**GHRH-arginový test** spočívá v paralelním intravenózním podání rekombinantně vyrobeného growth hormon releasing hormonu v dávce 1 mcg/kg s paralelní infuzí roztoku argininu. Test je dobře snášen a má minimum nežádoucích účinků (kromě flush) a kontraindikací. Jedná se o nejsilnější stimulaci a pro hodnocení výsledku tohoto testu existují zvláštní normy, které zohledňují věk a tělesnou hmotnost, resp. body mass index (BMI) (Ho, 2007). Pro běžnou populaci je jako cut-off hodnota pro deficit GH uváděno 9 mcg/l (Ghigo et al., 1996). Hodnoty mezi 9–16,5 mcg/l jsou někdy označovány jako parciální deficit GH (Aimaretti G. et

al., 2000) Dle některých autorů je GHRH-argininový test alternativní test druhé volby při kontraindikaci provedení ITT. Tento test není možné použít pro vyšetřování poruchy sekrece GH vzniklých na úrovni hypothalamu.

**Argininový test** s podáním samotného argininu je slabým stimulantem sekrece GH a v běžné praxi se pro testování sekrece GH v dospělosti neužívá, resp. je někdy využíván při vyšetřování deficitu GH u dětí.

**Klonidinový test** u dospělých jedinců použít nelze, ale při vyšetřování sekrece růstového hormonu v dětství lze tento test, kromě uvedeného arginiového testu, použít. Klonidin je centrální alfa-adrenergní agonista. Přesný princip stimulace, stejně jako u glukagonového testu není znám, nicméně stimulace sekrece GH pomocí klonidinu není zprostředkována GHRH. Vedle GHRH-argininového testu jde o jeden z nejsilnějších stimulačních testů pro GH. Test spočívá v perorálním podání klonidinu v dávce 0,075 mg/m<sup>2</sup>. Odběr krve na stanovení GH se provádí před aplikací a poté po 30, 60, 90 a 120 minutách (odběr ve 120. minutě může být někdy vynechán). Za fyziologickou odpověď na podanou dávku klonidinu je považován vzestup GH nad 3,3 mcg/l.

Možným nežádoucím účinkem je únava až somnolence. Výskyt hypoglykemie jako komplikace podání klonidinu je nízký s uváděnou frekvencí 2-3 %. Při použití v daném dávkování pokles krevního tlaku nehrozí.

### 5.7.5.3. Dynamické testy pro posouzení funkce gonadotropní osy

Základem pro diagnostiku poruch gonadotropní osy je stanovení bazálních (ranních) hladin příslušných hormonů. U mužů stanovujeme luteinizační hormon (LH), folikuly stimulující hormon (FSH) a testosteron. U žen stanovujeme koncentraci LH, FSH, estradiolu a dotazem ověřujeme přítomnost a pravidelnost menstruačního krvácení.

**GnRH test** je indikován u žen pro odlišení amenorey z hypothalamických a hypofyzárních příčin, dále při opožděném nástupu puberty. U mužů bývá tento test aplikován v rámci diferenciální diagnostiky sekundárního a terciárního hypogonadismu, při podezření na pubertas praecox a ke zjištění zralosti osy – hypothalamus-hypofýza-gonády v prepubertálním období. V klinické praxi není nicméně význam tohoto testu velký.

Test spočívá v intravenózní aplikaci 100 mcg GnRH (LHRH, Ferring) s odběry na stanovení LH (dle některých protokolů i FSH) provedenými v 15., 30., 45., 60. a 90. minutě. Fyziologickou odpovědí je vzestup LH a FSH zaznamenaný mezi 15. a 60. minutou (Isidori et al., 2008). Existuje i zjednodušená varianta se subkutánní aplikací analoga GnRH a odběry před aplikací a 4 hodiny po aplikaci. Fyziologickou odpovědí na podání GnRH je vzestup hladiny LH na 1,5–2 násobek bazální hodnoty resp. vzestup LH nad 20 IU/l – konkrétní normy se liší dle indikace k provedení testu.

#### 5.7.5.4. Dynamické testy pro posouzení thyreotropní osy

**TRH test** je v rutinní diagnostice centrální hypothyreózy prakticky nepoužívaný a pro diagnostiku poruchy thyreotropní osy obvykle stačí zhodnocení koncentrací TSH, volného trijódthyroninu a volného thyroxinu z ranních odběrů (Hartoft-Nielsen et al., 2004).

TRH test spočívá v odběru TSH bazálně a následně ve 20. a v 60. minutě testu – po intravenózní aplikaci 200 mcg TSH. Paralelně stanovujeme také hladinu prolaktinu. Tento test může pomoci odlišit, zda jde o poruchu na úrovni hypotalmu či hypofýzy. Dále je používán při zjištění neadekvátně vysoké hodnoty TSH se zvýšenou hladinou volného thyroxinu pro rozlišení mezi rezistencí na thyreoideální hormony a TSH produkujícím adenomem. Lze jej také použít pro ověření deficitu prolaktinu při podezření na poruchu laktace na podkladě hypopituitarismu vzniklého po porodu (Sheehanův syndrom).

## 5.8. Poruchy funkce neurohypofýzy

Porucha tvorby či uvolňování ADH vede k rozvoji neurogenního (centrálního) diabetes insipidus, který je charakterizován vylučováním velkého objemu moči s nízkou osmolalitou (pod 250 mmol/kg).

Destrukce hypothalamických jader zodpovědných za tvorbu ADH vede obvykle k permanentnímu diabetes insipidus. Přerušení hypothalamo – hypofyzárního traktu obvykle vede k třífázové poruše sekrece ADH. Po přechodné fázi polyurie v délce trvání několika hodin až dní následuje období antidiurézy

s rozvojem hyponatremie (dochází pravděpodobně k sekreci ADH z poškozených axonů). Tento stav odpovídá syndromu nepřiměřené sekrece ADH. Tento stav se někdy upravuje do normy, někdy přechází do třetí fáze s opětovným rozvinutím polyurie při deficitu ADH.

Prevalence diabetes insipidus centralis se odhaduje asi na 40 případů na 1 milion obyvatel. Deficit hodnotíme dle míry zachované sekrece na parciální a kompletní. Příčiny diabetes insipidus s vyznačenou frekvencí výskytu jsou uvedeny v Tab. č. 2.

Diabetes insipidus bývá až v 61 % spojen s hypopituitarismem. Nejčastějším sdruženým deficitem je porucha sekrece růstového hormonu (59 %), hypothyreóza (28 %), hypogonadismus (24 %) a hypokortikalismus (22 %) (Maghnie et al., 2000).

Kromě nedostatku ADH může vzniknout stav nepřiměřené sekrece ADH (SIADH, Schwartz-Barterův syndrom).

Tab. č. 2: Etiologie diabetes insipidus centralis dle věku (podle Melmed, 2011)

Příčina	Výskyt u dětí (%)	Děti a mladí dospělí (%)	Dospělí (%)
Primární tumor mozku (kraniofaryngom, dysgerminom, meningeom, adenom, gliom, astrocytom)	49,5	22	30
Před operací	33,5		13
Po operaci	16		17
Idiopatický (izolovaný či familiární)	29	58	25
Histiocytóza	16	12	-
Metastatické postižení (karcinom prsu, plic, lymfom, leukemie)			8
Úraz	2,2	2	17
Postinfekční	2,2	6	

Při hodnocení poruchy sekrece ADH vycházíme z klinických příznaků (přítomnost polyurie a polydipsie) a dále pak ze stanovení koncentrace natria v séru,

a z osmolality séra. V případě zejména parciálních deficitů je třeba poruchu sekrece ADH ověřit testem s odnětím tekutin (koncentrační test, test se žízněním) se sledováním natremie, osmolality séra a moče po odnětí tekutin. Tento test trvá v klasické podobě 36 hodin, ale existuje i ve zkrácených modifikacích. Při podezření na kompletní diabetes insipidus, kde hrozí při odnětí tekutin rychlý rozvoj dehydratace, používáme modifikace s monitorací diurézy v intervalu 1 hodiny.

Jistá zlepšení pro diagnostiku poruch sekrece ADH by mohla přinést možnost stanovení pre-pro hormonu ADH – kopeptinu (Fenske et al., 2011), a to jednak bazálně, ale zejména v rámci testu s odnětím tekutin.

## 5.9. Využití zobrazovacích metod v diagnostice poruch hypofýzy

Diagnostika hypopituitarismu se opírá o klinický obraz a laboratorní vyšetření. Nicméně při potvrzené poruše funkce hypothalamo-hypofyzární jednotky je pro zjištění příčiny hypopituitarismu třeba provést vyšetření zobrazovacími metodami.

Základním metodou pro grafické zobrazení struktur CNS je CT, které je však pro zobrazení struktur v sellární oblasti nevhodné, a zlatým standardem je v této indikaci vyšetření magnetickou rezonancí. MR umožňuje zobrazení adenohypofýzy, neurohypofýzy a stopky. Zadní lalok je dobře diferencovatelný jako tzv. bright spot v T1 vážených obrazech. Tato charakteristika v grafickém zobrazení do určité míry odráží funkční aktivitu – jeho nepřítomnost odráží ztrátu funkce a může pomoci při diagnostice deficitu ADH (Maghnie et al., 2000). Fyziologicky dochází po 60. roce k poklesu intenzity tohoto „světlého bodu“ jako důsledek poklesu funkční rezervy neurohypofýzy (Fujisawa, 2005).

Analýze nálezů na MR a CT sellární oblasti u pacientů po TBI se věnovala práce Schneider et al., v které byly morfologické změny zjištěny u 80 % jedinců, u kterých byl zjištěn pórakový hypopituitarismus, a u 29 % jedinců, kteří měli normální hypofyzární funkce. Nejčastěji zjištěnými odchylkami byl zmenšený objem hypofýzy či obraz empty sella, nehomogenita hypofýzy v nativním zobrazení, známky svědčící pro poruchu perfuze či chybějící zvýraznění neurohypofýzy (Schneider et al., 2007 b).



## 5.10. Traumatické postižení mozku

### 5.10.1. Definice

Traumatické poranění mozku (traumatic brain injury, TBI) je definováno jako nedegenerativní, nekongenitální poškození mozku vzniklé působením zevní mechanické síly s možným permanentním či přechodným postižením kognitivních, fyzických či psychických funkcí, spojené se sníženým či alterovaným stavem vědomí. TBI je významnou příčinou nemocnosti, fyzických a psychických handikepů a mortality. TBI může mít významný dopad nejen na fyzické psychické zdraví, ale také na kognitivní funkce, emoční prožívání a může mít významné sociální důsledky.

Pro klasifikaci tíže TBI je používána mezinárodní klasifikace dle Glasgow coma scale (Tab. č. 3). Při výsledku 3–8 bodů je trauma hodnoceno jako těžké, 9–12 jako středně těžké a 13–15 jako mírné.

Dle délky ztráty vědomí či poruchy mentálních funkcí rozlišujeme TBI jako mírné do 30 min., středně těžké 30 min. až 6 hod. a těžké při délce trvání poruchy kognitivních funkcí nad 6 hodin.

Tab. č. 3: Glasgow coma scale.

Otevření očí	spontánní – 4 body
	na oslovení – 3 body
	na bolestivý podnět – 2 body
	neotvírá – 1 bod
Nejlepší motorická odpověď	na výzvu adekvátní motorická reakce – 6 bodů
	na algický podnět cílená obranná reakce – 5 bodů
	na algický podnět úniková reakce – 4 body
	na algický podnět nespecifická flexe – 3 body
	na algický podnět nespecifická extenze – 2 body
	žádná – 1 bod
Nejlepší hlasový projev	adekvátní slovní projev – 5 bodů
	neadekvátní slovní projev – 4 body
	jednotlivá slova – 3 body
	nesrozumitelné zvuky – 2 body
	žádný – 1 bod

Kromě GCS existuje zjednodušené klasifikace tíže TBI dle motorické reakce (Simplified motor score, SMS) – Tab. č. 4. Dle studie Thompson et al. je použití SMS v přednemocniční péči ekvivalentní GCS ve smyslu predikce dalšího průběhu a následků TBI (Thompson et al., 2011).

Tab. č. 4 Zjednodušená klasifikace tíže TBI dle motorické reakce (Simplified motor score, SMS).

Motorická reakce	Body
vyhoví příkazu	2
lokalizuje bolest	1
úniková reakce na bolest či horší	0

## 5.10.2. Klasifikace

Poranění vedoucí k TBI rozdělujeme dle rozsahu postižení na základě klinického nálezu a zobrazovacích metod na fokální a difuzní. K fokálním poraněním řadíme frakturu lebky a povrchové zhmoždění. Příkladem difuzního poškození je difuzní axonální poškození, hypoxicko-ischemické poškození, meningitida a vaskulární poranění. Fokální poranění vznikají častěji kontaktním mechanismem, difuzní poškození naopak vlivem akcelerace-decelerace. V klinické praxi je většina úrazů způsobena kombinací obou typů poranění.

Dle mechanismu vzniku traumatu rozlišujeme primární a sekundární poranění. Primární poranění je způsobeno mechanickou silou a nastává v okamžik úrazu. Sekundární poranění nevzniká mechanickým působením a může vzniknout v časovém odstupu od úrazu.

### 5.10.2.1. Primární poranění

Rozlišujeme 2 základní mechanismy vzniku primárního poranění. Kontakt např. mezi předmětem a hlavou či mezi mozkem a lebkou a úraz vzniklý vlivem akcelerace-decelerace. V důsledku akcelerace-decelerace může dojít k vzniku intrakraniálního hematomu, difuznímu axonálnímu poškození, postižení hlavových nervů či hypofýzy resp. její stopky.

Kontuzní poranění je neohraničené postižení mozku postižené edémem mozkové tkáně (Flint et al., 2008). Typickou lokalizací kontuzního poranění mozku jsou póly a kaudální část frontálních laloků, dále pak laterální a kaudální části temporálních laloků.

Intrakraniální hematom je nejčastější příčinou úmrtí při kraniocerebrálním traumatu.

Z patologicko-anatomického hlediska rozlišujeme

- a) epidurální hematom vznikající nejčastěji při fraktuře spánkové kosti s následnou lacerací art. meningea media v důsledku čehož dochází ke kolekci krve mezi lebkou a durou mater. Vzhledem k tomu, že se jedná o arteriální krvácení, je nárůst hematomu, stejně jako rozvoj klinických příznaků podmíněných tlakem krve na mozek, poměrně rychlý.

- b) subdurální hematom vzniká nejčastěji natržením žil přemostujících subdurální prostor. Pro subdurální hematom je charakteristický pomalejší nárůst s opožděným nástupem rozvoje klinických projevů.
- c) subarachnoidální traumatické krvácení vzniká poškozením kortikomeningeálních cév s krvácením do likvorových cest a subarachnoidálního prostoru.

Difuzní axonální poranění je významným patogenetickým mechanismem podílejícím se na TBI. Jedná se často o mikroskopické poškození bez korelátu v zobrazovacích metodách. Hlavním mechanismem, který vede k vzniku difuzního axonálního poranění, je rotační akcelerace mozku vedoucí vlivem tažných sil k poškození axonů (poškození cytoskeletu) na mikroskopické úrovni s následnou poruchou jejich funkce (Smith et al., 2003).

#### 5.10.2.2. Sekundární poranění

Sekundární poranění mozku vzniká v odstavu hodin až dnů po primárním poranění. Jedním z mechanismů je porucha prokrvení vzniklá po úrazu vedoucí k rozvoji lokálního edému, krvácení či vzestupu intrakraniálního tlaku. Vlivem hypoperfuze a zvýšeného uvolnění některých excitačních aminokyselin jako je glutamát či aspartát, dochází k poruše funkce iontových pump s následným rozvojem poškození neuronů s tvorbou volných radikálů, proteolýzou, peroxidací lipidů vedoucí k nekróze buněk.

Na poškození buněk se pravděpodobně podílí i zánětlivá reakce (Noppens et Brambrink, 2004). K faktorům, které přispívají k rozvoji cerebrální hypoperfuze, patří arteriální systémová hypotenze, hypoxie, intrakraniální krvácení, edém mozku a hypertermie.

#### 5.10.3. Epidemiologie

Traumatická poranění mozku jsou závažný zdravotní problém s uváděnou incidencí v Evropě 235 / 100 000 osob za rok (Tagliaferri et al., 2006). Zdravotní komplikace nejsou spojeny pouze s akutním obdobím, ale jde o stav spojený s celou

řadou možných zdravotních, často dlouhodobých až trvalých, následků. Roční incidence traumatického poranění mozku v populaci je uváděná v rozmezí 100–300 případů / 100 000 obyvatel (Tagliaferri et al., 2006).

Do 25 let věku utrpí trauma hlavy přibližně 30 % jedinců (Corrigan et al., 2010). V dětství je incidence kraniocerebrálních traumat nejvyšší ve věkových skupinách 0–4 a 15–19 let. Hospitalizace je nezbytná v cca 30% případů. Středně těžká až těžká poranění tvoří kolem 10 %. Ve věku 0–14 let dominují mezi příčinami kraniocerebrálních úrazů pády a od 15 do 25 let kontaktní sporty a havárie motorových vozidel. (McKinlay et al., 2008). V dospělosti činí incidence vážných kraniocerebrálních traumat asi 30/100 000 obyvatel, a to obecně s vážnějšími následky poranění ve srovnání se skupinou dětských pacientů. Středně vážné až vážné následky má 20–40 % jedinců.

V případě přežití úrazu trvá v roce následujícím po úrazu zvýšená mortalita i po adjustaci na věk, pohlaví a rasu, a to zejména v důsledku epilepsie, sepse, pneumonie a GIT onemocnění (Harrison-Felix et al., 2006).

#### 5.10.4. Komplikace po TBI

K možným komplikacím TBI patří, kromě hormonálních deficitů, poúrazová epilepsie, hydrocefalus, tromboembolické komplikace, svalová spasticita, ektopické periartikulární kalcifikace, gastrointestinální komplikace (stresové vředy žaludku, dysfagie a inkontinence stolice), urogenitální komplikace (močové infekce, striktury uretry), nespavost, poruchy kognitivních funkcí, posttraumatická cefalea, deprese).

Posttraumatická epilepsie je možnou komplikací zejména středně těžkých a těžkých TBI. Vyskytují se s četností 5–18,9 % (Bushnik et al., 2004). Jedná se nejčastěji o generalizované či parciální záchvaty. Absence se vyskytují po úrazu zřídka. Z časového hlediska rozlišujeme epileptické záchvaty okamžité, objevující se v prvních 24 hodinách po úrazu, časné, objevující se 2.–7. den a pozdní, vznikající po 7. poúrazovém dni.

Posttraumatický hydrocefalus rozlišujeme dle patogenetického mechanismu na komunikující a nekomunikující. Nekomunikující hydrocefalus vzniká obstrukcí komorového systému, komunikující hydrocefalus vzniká při překážce v subarachnoidálním prostoru.

Tromboembolické komplikace komplikují traumatické poranění mozku až v 54 % případů (Cifu et al., 1996).

Psychické obtíže. Posttraumatická agitovanost se dle Baguley et al. vyskytuje ve formě sklonů k agresivitě asi u 25 % pacientů v pětiletém období sledování po TBI (Baguley et al., 2006). Tyto sklony k agresivitě jsou častější u jedinců s depresemi a u těch, kteří úraz utrpěli v nižším věku. Ke klasifikaci stupně agitovanosti po TBI byl vyvinut skórovací systém Agitated Behavior Scale (Corrigan et al., 1989). Vyvolávajícím faktorem agitovanosti po TBI může být bolest, minerálová dysbalance, nežádoucí efekt farmakoterapie, nespavost či psychóza.

Častou komplikací TBI nastupující po odeznění akutních obtíží je nespavost. Při srovnání se skupinou stejného složení věku a pohlaví činil podíl osob s poruchami spánku ve skupině s anamnézou TBI 80 % a v kontrolní skupině pouze 23 % (Parcell et al., 2006). Kromě insomnie může být součástí komplikací TBI i zvýšená denní spavost, která se často sdružuje s depresivními symptomy a anxiétou (Ponsford et al., 2013).

Další, relativně častou komplikací TBI, jsou bolesti hlavy. V akutní fázi se objevují u 38 % jedinců, a to zejména ve frontální oblasti (Walker et al., 2005). Cefalea může po TBI přetrvávat dlouhodobě, a to ve formě tenzních bolestí hlavy či může dojít k exacerbaci migrenózních bolestí.

Těžší depresivní stavy se objevují u 40 % jedinců po TBI (Jorge et Starkstein, 2005). Depresivní stavy se často sdružují se snížením kognitivních funkcí, úzkostnými stavy, sklonem k vzniku závislosti a se stavy agresivity (Dikmen et al., 2004).

### 5.10.5. Hodnocení a predikce následků TBI

K hodnocení následků TBI jsou používány tři základní skórovací metody. Je to jednak Functional Independence Measure (Keith et al., 1987) – Tab. č. 5, dále pak Glasgow outcome scale (Jennett et Bond, 1975) a Disability Rating Score – Tab. č. 6.

Tab. č. 5: Functional Independence Measure – Hodnocení funkční nezávislosti (upraveno dle Kalvach Z. Geriatrické syndromy a geriatrický pacient, 2008).

Hodnocená oblast	
Osobní hygiena	A. příjem jídla
	B. Osobní hygiena
	C. Koupání
	D. Oblékání – horní polovina těla
	E. Oblékání – dolní polovina těla
	F. Použití WC
Ovládání sfinkterů	G. Kontrola močení
	H. Kontrola vyprazdňování
Přesuny	I. Postel, židle, vozík
	J. Toaleta
	K. Vana, sprchový kout
Lokomoce	L. Chůze, jízda na vozíku
	M. Schody
Komunikace	N. Rozumění (sluchové/zrakové)
	O. Exprese (verbální/non-verbální)
Sociální schopnosti	P. Sociální interakce
	Q. Řešení problémů
	R. Paměť
<b>Celkové FIM skóre:</b>	

Tab. č. 6: Glasgow Outcome Scale (podle Jenett et Bond, 1975).

Skóre	Úroveň	Popis
1	Smrt	-
2	Perzistující vegetativní stav	Minimální reakce na stimulaci.
3	Těžké postižení	Při vědomí, ale těžce postižený, závislý na každodenní pomoci okolí.
4	Středně těžké postižení	Postižený, ale nezávislý; schopen práce ve speciálním režimu.
5	Dobrá úprava stavu	Návrat do normálního života, přes přetrvávající mírný deficit.

Hodnocení dle GOS po třech měsících od úrazu má dobrou prediktivní hodnotu na predikci dlouhodobých následků TBI (King Jr. et al., 2005). Mnoho studií prokázalo řadu možností jak predikovat dlouhodobé následky TBI. Dle Cuthbert et al. lze predikovat možnost dimise do domácí péče na základě vstupní hodnoty GCS a délky hospitalizace (Cuthbert et al., 2011). K dalším parametrům, které predikují výsledky léčby TBI, patří např. hodnota intrakraniálního tlaku v prvních 48 hodinách po úrazu. Dle Badri et al. je tato hodnota nezávislým prediktivním faktorem mortality stejně jako funkčního neuropsychologického stavu po 6 měsících od úrazu (Badri et al., 2012). Prediktivní hodnotu pro následky TBI má také míra strukturálních změn na vstupním CT vyšetření spolu s mírou poruchy autoregulace nitrolebního tlaku v akutní fázi úrazu (Hiler et al., 2006).

Olivecrona et al. zjišťovali na skupině 48 jedinců, zda hormonální profil (hypofyzární funkce) jedinců po TBI s GCS pod 8, vyšetřených krátce po úraze, má prediktivní hodnotu pro hodnocení následku úrazu dle GOS v odstupu 3 měsíců. Přestože zjistili ve vysokém procentu (u 54 % pacientů 1. den po úrazu a dokonce u 70 % 4. den po úrazu) relativně nízký kortizol pod 276 nmol/l (autory zvolená cut-off hodnota pro deficit kortikoidů v kritických stavech – critical illness corticosteroid insufficiency), nebyl tento nález asociován s vyšší mortalitou či horšími následky úrazu v odstupu 3 měsíců. Naopak byla zjištěna signifikantně významná asociace



mezi supresí gonadotropní osy zjištěnou v 1. poúrazový den a vyšší pravděpodobností přežití a mírnějšími následky v odstupu 3 měsíců. Signifikantně snížené hodnoty fT3 a TSH 4. poúrazový den byly dle této práce asociovány s horšími následky po 3 měsících. Autoři také provedli srovnání hormonálních profilů se vstupním GCS a intrakraniálním tlakem, nicméně žádná, signifikantně významná spojitost zjištěna nebyla (Olivecrona et al., 2013)

## 5.10.6. Subdurální hematom

### 5.10.6.1. Definice

Subdurální hematom je definován jako kolekce krve v subdurálním prostoru – pod tvrdou plenou, resp. mezi durou mater a povrchem mozku krytým arachnoideou. Z hlediska časového rozlišujeme subdurální hematom akutní, diagnostikovaný do 72 hodin od úrazu, subakutní zjištěný do 7 dnů od úrazu a chronický, vzniklý více než 7 dní před stanovením diagnózy. K tomuto rozdělení je třeba znát okolnosti resp. okamžik úrazu, který vedl k rozvoji subdurálního hematomu, což není v řadě případů možné. Stáří hematomu lze také odhadnout z charakteristik nálezu na CT – subdurální hematom je v akutní fázi hyperdenzní a s přechodem do chronicity se stává hypodenzním.

Akutní a chronický subdurální hematom se neliší pouze intervalem mezi úrazem a jeho zjištěním, ale většinou jde o onemocnění s rozdílným klinickým průběhem. Akutní subdurální hematom je často spojený s rozsáhlým primárním traumatem mozku. Ve studii Kotwica a Brzezinski byla v 82 % případů přítomna kontuze mozkového parenchymu, která byla také spolu s přítomností přesunu středočárových struktur spojena se zvýšenou mortalitou (Kotwica et Brzezinski, 1993).

### 5.10.6.2. Patogeneze

Pravděpodobným mechanismem, který vede k rozvoji subdurálního hematomu, je natržení a následné krvácení z přemostujících žil, a to jako následek nárazu do hlavy, který vedl k akceleraci či naopak deceleraci mozku ve vztahu k fixovaným strukturám dury mater. Žilní krvácení (pod nízkým tlakem) vede k disekci

(oddělení) arachnoidey od dura mater s vytvořením kolekce tekutiny na konvexitě mozku.

Sekundární poškození mozku spojené se subdurálním hematomem vzniká působením lokálního tlaku hematomu, vzestupem intrakraniálního tlaku či přidruženým postižením parenchymu. Může se jednat o edém, infarzaci, sekundární krvácení či herniaci mozku.

Malý chronický subdurální hematoma má tendenci se resorbovat, u větších hematomů dochází k organizaci, vytváří se membrána, která hematoma ohraničuje – cévy procházející touto membránou mohou být zdrojem dalších, opakovaných krvácení, vedoucích k nárůstu objemu hematoma.

Subdurální hematoma je nejčastěji lokalizován na konvexitě mozku. V jiných lokalizacích (zadní jáma lební, subtemporálně, interhemisferálně) se subdurální hematoma vyskytuje vzácně. Oboustranný subdurální hematoma se vyskytuje cca v 22 % případů (Soussa et al., 2013). V našem souboru byl přítomen v 19 % případů.

Výskyt je výrazně vyšší ve vyšším věku, což bývá vysvětlováno atrofií mozku vedoucí k napnutí přemostujících žil. Ke vzniku subdurálního hematoma dochází nejčastěji při úrazu hlavy, často však s minimálními či žádnými klinickými projevy v časném období po úrazu. Vzhledem k uváděné souvislosti s atrofií mozku se SDH vyskytuje ve vyšší míře ve spojení s chronickým abusem alkoholu a syndromem demence (Foelholm et Waltimo, 1975). K dalším faktorům zvyšujícím riziko vzniku SDH patří koagulopatie, antikoagulační a antiagregační léčba, epilepsie a přítomnost cerebrálního shuntu (Foelholm et Waltimo, 1975).

### 5.10.6.3. Epidemiologie

Chronický subdurální hematoma se vyskytuje s incidencí asi 2–3 případy na 100 tisíc obyvatel / rok (Weir, 1983). Vyšší výskyt chronického SDH je u mužů – v 81,6 % (Kanat et al., 2010). Incidence je nejvyšší mezi šestou a osmou dekádou života.

## 5.11. Poruchy funkce hypofýzy po TBI a SAK

Hypopituitarismus jako komplikace kraniocerebrálního úrazu byl poprvé popsán v roce 1918 (Cyran, 1918), nicméně po řadu let byla tato problematika do jisté míry opomíjena a až v posledních dvou dekádách je problematice poúrazových endokrinních poruch věnovaná náležitá pozornost. Vzhledem k incidenci TBI v Evropě, která činí 235 / 100 tis. obyvatel se jedná o potenciálně významnou problematiku. Kromě kraniocerebrálních traumat je dle řady prací možnou příčinou hypopituitarismu i subarachnoidální krvácení, které se vyskytuje s četností 6–10 / 100 000 osob ročně (van Gijn et al., 2007). Poruchy sekrece hypofyzárních hormonů byly popsány i po operacích mozku vzdálených od hypothalamu a hypofýzy (De Marinis et al., 2006; Fleck et al., 2013). K rozvoji poruchy hypofyzárních funkcí může dojít v akutní fázi i v delším časném odstupu od úrazu (Schneider et al., 2007 a). V posledních letech byla na toto téma publikována řada prací včetně multicentrických studií a metaanalýz s uváděnou prevalencí hypopituitarismu po úrazech hlavy v širokém rozmezí 5–68 % (Agha et al., 2004 b; Aimaretti et al., 2004; Kokshorn et al., 2011).

### 5.11.1. Poruchy sekrece hormonů adenohipofýzy

Porucha sekrece hormonů adenohipofýzy může vzniknout na úrovni hypothalamu, hypofyzární stopky nebo hypofýzy. Kromě poruch podmíněných organickou lézí se u kraniocerebrálních traumat můžeme, zejména v akutní fázi, setkat s funkčními poruchami, které jsou do určité míry společné pro akutní stresové reakce obecně. Pro evaluaci hormonálních poruch je třeba zohledňovat časový faktor, a proto je vhodné hodnotit jak akutní, tak dlouhodobě perzistující (chronické) hormonální poruchy po traumatu mozku zvlášť.

#### 5.11.1.1. Akutní fáze

Krátce po kraniocerebrálním traumatu dochází k aktivaci adrenokortikotropní osy – stoupá hodnota sérového kortizolu (Cernak et al., 1999). Nicméně u některých nemocných v kritickém stavu je popisována relativní parciální kortikosteroidní insuficience, která je způsobená adrenální insuficiencí spolu s rezistencí tkání

k účinku kortikoidů. Jedná se o pacienty s vystupňovanou a protražovanou zánětlivou odpovědí. Podezření na ni vzniká především u pacientů v sepsi, kteří špatně reagují na doplnění tekutin a vazopresorické látky. Při použití glukagonového stimulačního testu k evaluaci funkce HPA osy a aplikaci cut-off hodnoty 450 nmol/l pozorovali Agha et al. nedostatek kortizolu u 16 % pacientů v akutní fázi po TBI (Agha et al., 2004 a).

K poruše sekrece kortizolu u kriticky nemocných může dojít v důsledku poruchy vzniklé na více úrovních. Uplatňovat se může vliv některých cytokinů. Například TNF- alfa tlumí účinek CRH na sekreci ACTH a také inhibuje působení ACTH a angiotenzinu II na sekreci adrenálních buněk. Zvažován je také možný podíl deficitu substrátu pro tvorbu kortizolu – LDL cholesterolu na sníženou sekreci kortizolu (Arem et al., 1997). Řada prací zkoumala metabolismus kortizolu v akutních stavech. Stanovena byla cut-off hodnota sérového kortizolu pro hypokortikalismus v kritických stavech (critical illness related corticosteroid insufficiency), která činí 10 mcg/dl (= 276 nmol/l) (Annane et al., 2006). Intervenční studie s podáváním steroidů (methylprednisolonu v akutní fázi po TBI) však musela být pro pozorovaný vzestup komplikací i mortality ve srovnání s placebem předčasně zastavena (Roberts et al., 2004).

Hannon et al. se ve své práci zaměřili na zjištění, zda neadekvátně nízký plazmatický kortizol (autory definovaný jako hodnota pod 300 nmol/l) a/nebo přítomnost diabetes insipidus centralis v časném období po úrazu mozku je asociován se zvýšenou mortalitou a predikuje rozvoj (perzistenci) poruch funkce adenohypofýzy v delším časovém odstupu od úrazu. Neadekvátně nízký plazmatický kortizol byl zjištěn u 78 % pacientů a statistická analýza potvrdila, že oba sledované parametry byly asociovány se zvýšenou mortalitou. U všech z 39 % jedinců, u kterých byl v dalším sledování potvrzen deficit alespoň jednoho z hormonů hypofýzy, byl přítomen v akutní fázi neadekvátně nízký plazmatický kortizol nebo diabetes insipidus (Hannon et al., 2013).

V akutní fázi po kraniocerebrálním traumatu je častým nálezem centrální hypogonadismus. Ve studii Agha et al. byl centrální hypogonadismus přítomen u 80 % vyšetřených jedinců (Agha et al., 2004 a). Nicméně útlum gonadotropní osy je běžnou reakcí organismu na stres a setkáváme s ním i u jiných traumat a závažných stavů. Dle některých autorů existuje korelace mezi závažností kraniocerebrálního traumatu a mírou útlumu gonadotropní osy vyjádřenou poklesem hladiny

testosteronu. (Cernak et al., 1999), jiní autoři však tuto korelaci nepotvrdili (Lee et al., 1994). Útlum sekrece pohlavních hormonů je s největší pravděpodobností adaptační odpovědí organismu na těžký stav s cílem snížení spotřeby energie, neboť androgeny působí anabolicky. Dle Olivecrona et al. je útlum gonadotropní osy v akutní fázi naopak spojen se snížením mortality a lepším funkčním stavem zjištěným v odstupu 3 měsíců od úrazu (Olivecrona et al., 2013). Existuje ale i práce poukazující na souvislost mezi výskytem hormonálních poruch (nízké hladiny testosteronu a IGF-1) po úrazu mozku a komplikovanější rehabilitací (Rosario et al., 2013).

Laboratorní parametry thyreoidálních funkcí u pacientů v akutní fázi po kraniocerebrálním traumatu vykazují velmi rozdílné výsledky v závislosti na stavu organismu a odstupu od traumatu resp. fázi rekonvalescence. Typické pro akutní stadium je snížení volného trijodthyroninu v rámci tzv. low T3 syndromu („euthyroid sick syndrome“). Stejně tak jako T3 může být snížen i volný thyroxin (Fleischer et al., 1978). Thyreotropní hormon (TSH) může být v iniciální fázi v normě či snížený, v období rekonvalescence naopak mírně zvýšený.

Podle některých prací je snížení volných hormonů štítné žlázy a TSH negativním prognostickým faktorem (Woolf et al., 1988; Olivecrona et al., 2013) a snížení fT4 u kriticky nemocných je spojené se zvýšenou mortalitou (Meyer et al., 2011). Ve studii Agha et al. byl výskyt centrální hypothyreózy pouhá 2 % (ve srovnání s četností výskytu poruch ostatních os) (Agha et al., 2004 a).

Hypeprolaktinemie je typickým laboratorním nálezem u stresu. Nicméně v některých pracích byl prolaktin u pacientů po TBI snížen či v normě. Agha et al. pozorovali zvýšený prolaktin v akutní fázi u 52 % jedinců (Agha et al., 2004 a).

Růstový hormon může být v akutní fázi zvýšen (King et al., 1981). Agha et al. v soboru s 50 jedinci o středně těžkém a těžkém TBI pozoroval deficit GH (definovaný jako porucha vzestupu GH po stimulaci glukagonem nad 5 ng/ml) u 18 % pacientů (Agha et al., 2004 a).

#### 5.11.1.2. Chronická fáze

K rozvoji hypopituitarismu nemusí dojít bezprostředně po úrazu (v akutním pouřazovém období), ale může se rozvinout v delším časovém odstupu – cca do 1 roku po úrazu. Dle analýzy dat z německé databáze je prevalence hypopituitarismu

v odstupu od úrazu (5 měsíců a více) vyšší než v akutním stadiu (Schneider et al., 2011), v jiných studiích byl naopak pozorován opačný trend – vyšší výskyt poruch funkce hypofýzy v časném stadiu ve srovnání s delším časovým odstupem od úrazu (Ulutabanca et al., 2014).

Řada symptomů typických pro období rekonvalescence po kraniocerebrálních úrazech je nespecifických, nicméně četné příznaky (únava, nesoustředěnost, nevykonnost, depresivita, poruchy spánku) mohou být příznakem latentního hormonálního deficitu. Metaanalýza prací věnovaných hypopituitarismu po TBI a SAK a z období 2000–2007 (Schneider et al., 2007 a) odhadla riziko hypopituitarismu po TBI na 27,5 % a u subarachnoidálního krvácení dokonce až na 47 %. V tomto souboru prací zahrnutých do metaanalýzy se nejčastěji jednalo o poruchu funkce jedné osy s tím, že nejvyšší výskyt měly poruchy sekrece GH a gonadotropní osy. Četnost poškození jednotlivých os se nicméně mezi jednotlivými studii poměrně značně liší. Agha et al. prospektivně vyšetřili 102 pacientů se zjištěnou prevalencí hypopituitarismu 28,4 %. Centrální hypokortikalismus byl zjištěn ve 22,5 %, porucha thyreotropní osy v 1 %, centrální hypogonadismus v 11,8 % a deficit růstového hormonu v 17,6 % případů. Hyperprolaktinemie byla zaznamenána v 11,8 % případech (Agha et al., 2004 b). K hodnocení sekrece ACTH a GH byl použit stimulační test s glukagonem a při zjištěné subnormální odpovědi (definované jako peak sérového kortizolu po stimulaci menší než 450 nmol/l, resp. GH pod 5 ng/ml) byl doplněn konfirmační test. K ověření funkce kortikotropní osy byl na prvním místě volen ACTH test s 250 mcg tetracosactidu, k ověření deficitu GH pak ITT či test s GHRH a argininem.

V poslední dekádě bylo publikováno několik prací, které zpochybňují dříve uváděný vysoký výskyt hypopituitarismu po kraniocerebrálních úrazech. Např. dánská multicentrická studie se 112 jedinci vyšetřeny v odstupu minimálně 1 roku po proběhlém úrazu hlavy. Delší odstup byl autory zvolen záměrně s cílem vyhnout se dezinterpretacím způsobených změnami hladin hormonů v akutní poúrazové fázi. Výskyt poruchy funkcí hypofýzy byl v této sestavě překvapivě nízký – 5,4 % (tj. u šesti pacientů). Nejčastější zjištěnou poruchou byl deficit růstového hormonu (3 případy) dále hypokortikalismus ve 2 případech a pouze 1 případ centrálního hypogonadismu (Kokshoorn et al., 2011). V této studii nebyla potvrzena jinými autory (Klose et al., 2008) zjištěná korelace mezi tíží traumatu a rizikem rozvoje hypopituitarismu.

Aimaretti et al. vyšetřili soubor pacientů po traumatickém poškození mozku i subarachnoidálním krvácením. Z celkem 102 pacientů bylo 70 pacientů po TBI, 32 pacientů po SAK. Jednalo se o prospektivní studii s vyšetřením v odstupu 3 měsíců od úrazu/krvácení a s kontrolním vyšetřením po 12 měsících od úrazu (Aimaretti et al., 2000). Hypopituitarismus v odstupu 12 měsíců po TBI byl prokázán ve 22,7 % případů (z toho v 5,7 % se jednalo o panhypopituitarismus), u pacientů se subarachnoidálním krvácením byl parciální hypopituitarismus po 12 měsících od krvácení zjištěn ve 37,5 % (panhypopituitarismus zde zjištěn nebyl). V 6,3 % se jednalo o postižení dvou a více os, v 31,3 % o izolovanou poruchu jedné osy (Aimaretti et al., 2005).

Na souboru 19 vojenských veteránů, kteří utrpěli kraniocerebrální trauma při výbuchu, byl zkoumán výskyt hypopituitarismu. U dvou jedinců byla zjištěna porucha sekrece GH, u jednoho izolovaný deficit ACTH a v jednom případě kombinovaný deficit GH, ACTH a gonadotropinů, přičemž identifikovaným rizikovým faktorem pro vznik hypopituitarismu byla fraktura lebky (Baxter et al., 2013).

Bezpochyby možnou příčinou rozdílných frekvencí výskytu poruch hypothalamo-hypofyzárních funkcí může být použití rozdílných testů, resp. provádění konfirmačních testů při zjištěných abnormitách (Klose et al., 2013; Agha et al., 2004 b). Zásadní je i aplikace vhodných norem při hodnocení testů se zohledněním možných ovlivňujících faktorů (BMI v případě hodnocení sekrece GH, normy pro testosteron pro rozdílné věkové skupiny mužů).

Stejně jako u hypopituitarismu vzniklého v důsledku kraniocerebrálního traumatu se zdá, že u subarachnoidálního krvácení je riziko rozvoje následného hypopituitarismu nižší než uváděly některé dřívější práce. Příčinou diskrepance mezi původními daty a novějšími výsledky by mohla být přísnější a přesnější metodologie (konfirmační testy). Gardener et al. v práci věnované výskytu hypopituitarismu po SAK s provedením stimulačních testů po 3 a 12 měsících od krvácení zjistili výskyt hypopituitarismu ve 12 %, přičemž v 10 % se jednalo o deficit růstového hormonu a ve 2 % o hypokortikalismus (v běžném životě málo významný, nevyžadující substituční léčbu). Autoři zde použili glukagonový test jako základní stimulační test pro vyšetření kortikotropní osy a sekrece růstového hormonu. Při zjištění poruchy provedli konfirmační testy: GHRH-argininový test k ověření deficitu GH a ACTH stimulační test při podezření na hypokortikalismus (Gardner et al., 2013). Tato práce tak navazuje na práci Klose et al., kteří vyšetřili 62 pacientů po SAK – 26 pacientů

bylo vyšetřených prospektivně (v prvních dvou týdnech po krvácení a po 12 měsících) a 36 pacientů bylo vyšetřených minimálně 11 měsíců po SAK. V akutní fázi byly pozorovány hormonální odchylky u 58 % pacientů (z 26). Kortizol byl snížený pod navrženou hranici u kriticky nemocných 276 nmol/l u 3 pacientů z 26 (12 %) a centrální hypogonadismus byl přítomen u všech kromě jednoho. Obraz nízkého T3 byl přítomen u 35 %, ale volný T4 byl v normě u všech. Hypopituitarismus v dalším časovém odstupu od krvácení nebyl zjištěn dokonce u žádného z vyšetřených pacientů (Klose et al., 2010).

Kromě potřeby confirmace dalším testem se ukazuje, že hormonální poruchy vzniklé v souvislosti s TBI a subarachnoidálním krvácením mohou mít přechodný charakter. Jak ukázala práce Karace et al., při retestování po 3 letech od ošetření subarachnoidálního krvácení došlo k významnému poklesu výskytu hypopituitarismu. Ve skupině 40 pacientů byl po 12 měsících po subarachnoidálním krvácení přítomen hypokortikalismus u 6 jedinců a při kontrolním testování po 3 letech od krvácení nebyl hypokortikalismus zjištěn u žádného z pacientů. Deficit GH byl po 12 měsících přítomen u 25 jedinců a po 36 měsících již jen u 20 jedinců (Karace et al., 2013).

Problematice hodnocení funkce hypofýzy (konkrétně hodnocení deficitu GH) po traumatu se věnovala v rozsáhlé, recentně publikované práci autorka Klose se spolupracovníky (Klose et al., 2014). Tato rozsáhlá studie se zaměřila na možné zkreslení (bias) v hodnocení deficitu GH po TBI. Na souboru 439 pacientů (medián odstupu od úrazu byl 2,5 roku) a 124 zdravých kontrol zkoumali vliv použití rozdílných norem pro hodnocení dynamických stimulačních testů (normy vycházející z obecně uznávaných doporučení a nově ustanovené „lokální“ normy), dále použití rozdílných testů (ITT, pyridostigmin-GHRH a GHRH argininový test), provádění konfirmačních testů a použití rozdílných laboratorních metod (biochemických kitů) pro stanovování GH. Autoři zjistili významné rozdíly v zjištěné prevalenci GHD: nižší výskyt při aplikaci „lokálních“ norem ve srovnání s všeobecně používanými normami (12 % vs. 19 % pro pyridostigmin-GHRH/GHRH-arg a 4.5 % vs. 5 % pro ITT), přičemž pouze v 1 % byl GHDA potvrzen 2 testy. Vliv použití rozdílných biochemických kitů prokázán nebyl.

Kazuistiky popisující endokrinní dysfunkce po TBI u dětí popisují obvykle těžké mnohočetné deficity (Accerini et al., 2006). Naproti tomu výsledky studií zaměřených na funkce adenohipofýzy po TBI v dětském věku přinášejí nejednoznačné výsledky.



V prospektivní roční studii s 31 dětmi (průměrný věk 11,6 roku) se středně těžkým až těžkým traumatem (GCS  $\leq$  12, prům. 6) byla zjištěna hormonální dysfunkce v odstupu 1 měsíce po traumatu u 15 %, v 6 měsících u 75 % a v 1 roce v 29 %. Po roce od úrazu z 21 dětí, které dokončily studii, měly 3 (14 %) děti předčasnou pubertu, 2 (9 %) hypothyreózu a 1 (5 %) deficit růstového hormonu. Přítomnost hormonální poruchy po 12 měsících od úrazu nekorelovala s tíží zranění. Mnoho z dysfunkcí zjištěných při prvních kontrolách mělo jen lehký a tranzitorní charakter, nevyžadovalo terapeutický zásah a do jednoho roku se upravilo (Kaulfers et al., 2010). V jiné, retrospektivní studii (Khadr et al., 2010) na 33 dětech (průměrný věk 13,4 roky, v odstupu 4,3 roky po TBI), autoři nezjistili žádnou klinicky významnou endokrinopatii. Zjištěné mírné odchylky v sekreci hypofyzárních hormonů nevyžadovaly terapeutickou intervenci a nebyly závislé na tíži traumatu ani na konečném funkčním stavu. K možným následkům TBI u dětí patří předčasná puberta. Její výskyt u dívek byl pozorován výrazně častěji (54 % versus 4,5 % u chlapců) (Sokalosky et al., 1987).

Stejně jako u dospělých i u dětí některé recentní práce nepotvrzují dříve uváděný relativně vyšší výskyt poruch hypofýzy po úrazech mozku, resp. zjišťují pouze přechodné poruchy, které se v delším časovém období upravují. Například ve studii Ulutabanca et al. byla porucha v akutní fázi zjištěna u 44,3 % pacientů (relativně vysoké zastoupení měla porucha sekrece ACTH – 24,4 %) nicméně s odstupem 12 měsíců se všechny deficity zjištěné v akutní fázi upravily a byly zjištěny pouze 2 nové případy deficitu GH (Ulutabanca et al., 2014).

Studie Heather et al. se 198 dětskými pacienty v delším odstupu od úrazu (6,5 +/- 3,2 roku) zjistila výskyt předčasné puberty u 2 jedinců. Nedostatečný vzestup GH ve stimulačním testu byl zjištěn v 8 % a subnormální vzestup kortizolu po stimulaci byl přítomen v 8 % (n = 17), nicméně při další kontrole nebyl deficit ACTH potvrzen (Heather et al., 2012).

Také nejnovější studie Personnier et al. s 87 dětmi (medián věku 6,7 let) prokázala těžký deficit GH (definovaný chybějícím vzestupem GH v rámci stimulačního testu nad 5 ng/ml a hodnotu IGF-1 méně než 2 SD) u 5 jedinců (přičemž 15 dětí mělo maximum GH pod 5 ng/ml, ale IGF-1 nedosahovalo snížení pod 2 SD). U dvou jedinců z této kohorty byla přítomna mírná centrální hypothyreóza a jeden jedinec měl deficit ACTH (Personnier et al., 2014).

Z klinického hlediska je třeba poznamenat, že na rozdíl od skupiny dospělých pacientů, může mít hormonální deficit v dětství (konkrétně např. deficit GH či gonadotropinů) závažnější dopady vzhledem k vlivu hormonů na růst a vývoj organismu. Tento fakt je také možné využít i diagnosticky. Bellone et al. sledovali dětské pacienty po TBI antropometricky a při průkazu růstové retardace (rychlost růstu pod 25. percentilem v odstupu 1 roku od úrazu) daného jedince testovali dynamickým testem (GHRH-argininový test). Mezi 13 takto vyšetřenými pacienty prokázali ve 3 případech izolovaný deficit GH a v 1 případě v kombinaci s deficitem ACTH a TSH (Bellone et al., 2013).

### 5.11.2. Poruchy sekrece hormonů neurohypofýzy

Poruchy sekrece ADH po traumatickém poškození mozku se manifestují zejména v akutní fázi, a to polyurií při diabetes insipidus centralis (DI) či hypoosmolární hyponatremií při nepřiměřené (zvýšené) sekreci ADH (SIADH) (Kaufmann et al., 1993).

Většina případů diabetes insipidus má tranzitorní charakter a trvalý DI je méně častý (Yuan et Wade, 1991). K úpravě vodního hospodářství obvykle dochází během dnů až týdnů po traumatu. Parciální forma DI však může být snadno přehlédnuta vzhledem k polymorfním obtížím pacientů po TBI. Diabetes insipidus centralis může znamenat závažnou život ohrožující situaci při poruše hypothalamických center signalizujících žížeň anebo při nedostatečném příjmu tekutin s rozvojem těžké dehydratace a rozvratem vnitřního prostředí.

V retrospektivní analýze 102 pacientů po středně těžkém TBI (GCS 9–13) nebo těžkém (GCS 8 a méně) prokázali Agha et al. DI ve 21,6 % v akutní postraumatické fázi. DI v akutní fázi se rozvinul především u pacientů s těžším poškozením mozku (nižším GCS) a edémem mozku. SIADH se rozvinul u 12,7 % pacientů v akutní fázi s výskytem především v prvním týdnu po traumatu (Agha et al., 2004 c). Hyponatremie způsobená cerebral-salt wasting syndromem byla diagnostikována pouze u jednoho pacienta. V chronické fázi (medián 17 měsíců po úrazu hlavy) byl DI přítomen u 7 (6,9 %) pacientů. U 5 z nich byl DI nepochybný již časně po úrazu, u jednoho se rozvinul 7. den a u posledního 17. den. U ostatních pacientů s DI přítomným v akutní fázi došlo k úpravě sekrece ADH. Byl pozorován vztah mezi tíží traumatu hlavy a rizikem vzniku trvalého DI – pacienti s nižším GCS

měli větší pravděpodobnost rozvoje trvalého DI. V chronické fázi po TBI pozorovali perzistenci SIADH pouze u jednoho pacienta, který měl obstrukční hydrocefalus. V jiných, starších studiích (Becker et Daniel, 1973; Twijnstra et Minderhoud, 1980), jsou velmi rozdílné nálezy ve zjištěné frekvenci výskytu SIADH po TBI (od 2,3 do 36,6 %), vyplývající zřejmě z rozdílných diagnostických kritérií a různé délky monitorování. Bondanelli a spol. v souboru 50 pacientů v chronické fázi, kteří utrpěli TBI v posledních 5 letech, nezjistili DI u žádného z nich (Bondanelli et al., 2004).

U pacientů po SAK v jedné studii Kreitschmann-Andermahr et al. neprokázali DI u žádného ze 40 pacientů (Kreitschmann-Andermahr et al., 2004). V jiné práci Aimaretti et al. diagnostikovali DI u 6,25 % pacientů za 3 měsíce a u 2,8 % za rok po SAK (Aimaretti et al., 2005). DI může být komplikací i chronického subdurálního hematomu (Won et al., 2013).

Data hodnotící funkci neurohypofýzy po TBI u dětí jsou v literatuře dostupná méně než studie věnované dysfunkci adenohipofýzy. V prospektivní studii s 31 dětmi po středně těžkém až těžkém poranění mozku ( $GCS \leq 12$ ) byl DI diagnostikován u 3 pacientů v akutní fázi a u dvou z nich došlo k úpravě během dvou týdnů (4. a 12. den). U třetího pozorovali úpravu při kontrole v 6 měsících (Kaufers et al., 2010). V retrospektivní studii 33 pacientů (5,4 - 21,7 let, medián 13,4 roku) 4,3 roky po TBI nebyl DI popsán u žádného pacienta (Khadr, 2010).

### 5.11.3. Patogeneze poškození hypothalamu a hypofýzy po TBI a SAK

Při poranění mozku může dojít k poškození hypothalamu nebo hypofýzy různými mechanismy. K nim patří mechanická komprese hypofýzy a/nebo hypothalamických jader, zlomenina kostních struktur (spodina lebeční), krvácení, zvýšený intrakraniální tlak, hypoxické poškození či edém. Kromě poškození struktur hypothalamu a hypofýzy, může dojít k poranění křehkých struktur stopky (Benvenga et al., 2000).

Na patogenetické mechanismy neuroendokrinní dysfunkce po TBI usuzujeme z informací, které máme k dispozici z autopsií, z nálezů ze zobrazovacích metod (MR a CT) i z klinických pozorování (dle průběhu rozvoje deficitů). Neuropatologické studie popisují poškození hypothalamu a hypofýzy u pacientů zemřelých následkem

TBI v 26,4 % (Ceballos, 1966) až 86 % (Kornblum et Fisher, 1969) V pozorování z pitevních nálezů jsou popisovány různé typy poškození adenohypofýzy a neurohypofýzy a hypofyzární stopky. Při akumulaci dat z obou těchto prací byl nález na hypofýze v normě v 26 %, v 59 % bylo přítomno subkapsulární krvácení, v 39 % krvácení do zadního laloku hypofýzy, v 22 % nekróza předního laloku, v 17 % krvácení do oblasti stopky a v 3 % nekróza stopky. Histopatologické nálezy na hypofýze se liší podle toho, v jakém časovém období po traumatu nastalo úmrtí. Ve skupině časně zemřelých (do 3 hodin po úraze) nebyly zjištěny makro ani mikroskopické patologické změny hypofýzy. Ve skupině pacientů zemřelých v rozsahu 3 hodin a 7 dnů byly zjištěny patologické nálezy v 42 %. Rozsah poškození se pohyboval od ložiskového postižení zasahujícího méně než 10 % tkáně až po nekrózu cca 90 % (Salehi et al., 2007).

Jedním z možných mechanismů podílejícím se na vzniku hypopituitarismu po TBI je aktivace autoimunitního procesu proti strukturám hypofýzy resp. hypothalamu. Tanriverdi et al. sledovali prospektivně možnou souvislost positivity autoprotilátek proti hypofýze a hypothalamu u pacientů v odstupu 1 roku, 3 a 5 let po prodělaném TBI s rizikem hypopituitarismu. Prokázali signifikantně vyšší výskyt hypopituitarismu po 5 letech od TBI u pacientů s vysokým titrem autoprotilátek (Tanriverdi et al., 2013).

Dosud neexistují práce, které by se systematicky věnovaly patologickým nálezům v hypothalamo-hypofyzární oblasti u pacientů po SAK. Mezi faktory, které by se na poškození neuroendokrinních funkcí mohly podílet, patří vzestup intrakraniálního tlaku, vazospasmy, porucha perfuze mozku, lokalizovaný či generalizovaný edém mozku. Komplikací SAK může být intracerebrální či nitrokomorové krvácení s rozvojem akutního hydrocefalu.

K častějšímu poškození hypothalamu došlo u pacientů s rupturou aneurysmatu na arteria communicans anterior a arteria communicans posterior. Možnými patofyziologickými mechanismy, kterými může dojít k rozvoji neuroendokrinní poruchy, jsou tedy přímé poškození krvácením, toxické poškození, záněť a ischemie způsobená vazospasmem (Jovanovic et al., 2010).

#### 5.11.4. Rizikové faktory vzniku endokrinních poruch po TBI a SAK

Glasgow Coma Scale (GCS) je nejčastěji používaným kritériem pro posouzení tíže traumatického poškození mozku (v rozsahu 15–13 se trauma mozku hodnotí jako mírné, 12–9 jako středně těžké a 8–3 jako těžké). Některé studie posuzující endokrinní poruchy po TBI zahrnovaly všechny pacienty bez ohledu na GCS, některé pouze pacienty s těžkým TBI. To je jistě jedna z příčin rozdílných výsledků. Dle některých prací existuje asociace mezi stupněm TBI (hodnoceno dle GCS) a rizikem vzniku poškození hypothalamo-hypofysárních funkcí (Klose et al., 2007 a). Některé práce ale souvislost mezi tíží traumatu a rizikem rozvoje poruchy funkce hypofýzy neshledaly (Agha et al., 2004 b, Kokshoorn et al., 2011).

Jiné studie nacházejí souvislost mezi zvýšeným intrakraniálním tlakem a rizikem rozvoje hypopituitarismu (Klose et al., 2007 b). Dále byla zjištěna asociace mezi přítomností difuzního axonálního poranění, frakturou baze lebni a zvýšeným výskytem hormonálních poruch (Schneider et al., 2008).

Možné korelaci mezi změnami na MRI a poruchou funkce hypofýzy po TBI byla věnovaná práce Zhen et al. Pacienti po mírném úrazu hlavy s normálním nálezem na mozku při konvenčním vyšetření podstoupili v odstupu 7 dnů od úrazu MR se speciálními sekvencemi a se speciální softwarovou analýzou snímků ke stanovení difuzního koeficientu hypofýzy (apparent diffusion coefficient). Tento parametr byl u jedinců s TBI signifikantně snížený ve srovnání s kontrolami a byl dále nižší u jedinců s prokázanou poruchou funkce hypofýzy (Zhen et al., 2014).

V jedné práci bylo vysledováno zvýšené riziko rozvoje hypopituitarismu s prodlužující se délkou pobytu na jednotce intenzivní péče (Herrmann et al., 2006).

U SAK nebyl dosud žádný prognostický faktor předvídající rozvoj neuroendokrinní poruchy identifikován. Nebyla potvrzena souvislost s klinickým stavem (nutnost inotropní podpory, přítomnost hydrocefalu) ani množstvím krve na CT dle score podle Fishera (Gardner et al., 2013).

## 5.12. Nové metody v diagnostice poruchy sekrece kortizolu

### 5.12.1. Kortizol

Kortizol je hlavní lidský glukokortikoid, který je produkován kůrou nadledvin. Syntéza probíhá v zona fasciculata, která představuje asi 75 % objemu kůry nadledvin. Denní produkce kortizolu je asi 10–20 mg (Kronenberg et al., 2008). Dalším glukokortikoidem zde syntetizovaným je kortikosteron. Kromě kortizolu jsou zde syntetizovány i androgeny a estrogyeny. Tato část nadledvin, resp. její syntetické funkce podléhají regulaci ACTH, který je hlavním regulačním prvkem syntézy a sekrece kortizolu. Vzhledem k tomu, že buňky této části nadledvin nemají v enzymatické výbavě enzym P450aldo – aldosteronsynthetasu, nejsou schopné konvertovat 11-deoxykortikosteron na aldosteron. Naproti tomu buňkám zóna glomerulosa chybí 17 $\alpha$  hydroxyláza, a nejsou tak schopny syntetizovat kortizol. Substrátem pro syntézu všech steroidů vč. kortizolu je cholesterol. Jeho hlavním zdrojem jsou plasmatické lipoproteiny – LDL. Na buňkách kůry nadledvin se nacházejí specifické receptory pro LDL cholesterol (Faust et al., 1977), ale zjištěna zde byla i přítomnost receptoru pro HDL cholesterol (Landschultz et al., 1996). V buňkách kůry nadledvin dochází částečně i k syntéze cholesterolu z acetylkoenzymu A. V nadledvinách jsou deponovány zásoby cholesterolu ve formě cholesterolových esterů a rovněž je zde v malém množství přítomen volný cholesterol, který slouží pro případ potřeby rychlého zvýšení tvorby kortizolu. Při stimulaci nadledvin k syntéze kortizolu dochází ke zvýšenému vychytávání cholesterolu z plasmatických lipoproteinů, dále ke zvýšené hydrolyse cholesterolových esterů a zvýšené syntéze cholesterolu.

Vstup ACTH do kůry nadledvin vede k rychlé tvorbě a sekreci kortizolu – k vzestupu koncentrace kortizolu v krvi dochází během několika minut. ACTH se váže na receptory na plasmatické membráně buněk zona fasciculata a aktivuje adenylátcyklázu (Cooke, 1999). cAMP aktivuje intracelulární fosfoproteinkinázy – proteinkináza A fosforyluje cholesterylesterhydrolázu, která vede k uvolnění cholesterolu z esterů cholesterolu a ten je následně v mitochondriích (vnitřní mitochondriální membráně) přeměňován vlivem P450acc na pregnenolon (Ganong,

1993). Tento krok je hlavním místem v kaskádě steroidogeneze, kde se uplatňuje regulační vliv ACTH na syntézu kortizolu. V regulaci transportu cholesterolu do mitochondriální membrány se uplatňuje steroidogenic acute regulatory protein (StAR), který je indukován zvýšením cAMP v důsledku navázání ACTH na membránový receptor (Clark et Stocco, 1996).

Dlouhodobá stimulace nadbytkem ACTH vede k hyperplazii nadledvin a naopak dlouhodobý deficit ACTH vede k atrofii kůry nadledvin spojené se snížením steroidogeneze.

### 5.12.2. Regulace HPA osy

ACTH je peptid složený z 39 aminokyselin. Primárně je syntetizován v adenohipofýze jako součást POMC složeného z 241 aminokyselin. Z této molekuly se v adenohipofýze vytváří (odštěpuje) proACTH, z kterého dalším štěpením následně vzniká ACTH. POMC je kromě hypofýzy transkribován v řadě dalších tkání mj. mozku, játrech, ledvinách, gonádách a placentě – zde se jedná o kratší variantu POMC, která není produkována ve významném množství. V některých nádorových buňkách může být paraneoplasticky produkována POMC, který je na rozdíl od hypofyzárního POMC delší (vlivem uplatnění alternativního promotoru).

Sekrece POMC je regulována CRH a ADH. Dále se uplatňuje diurnální rytmus, stres a zpětná vazba kortizol – kortikotropní buňky.

**CRH** je peptid tvořený 41 aminokyselinami produkový v hypothalamu v nucleus paraventricularis, odkud je secernovaný do portálního systému. V adenohipofýze se váže na receptory na povrchu kortikotropních buněk. Zde stimuluje transkripci genu POMC. CRH je hlavním stimulatorem sekrece ACTH. Kromě toho sekreci ACTH zvyšuje také vazopresin – potenciací účinku CRH. Dalšími sekretagogy ACTH, jsou angiotensin II, cholecystokinin a ANF. I jejich mechanismus účinku pravděpodobně spočívá v potenciaci účinku CRH.

**Stres.** Organismus odpovídá na stresové podněty jako je horečka, chirurgický zákrok, popálenina, hypoglykemie, hypotenze, tělesná námaha atd. vzestupem kortizolu, který je zprostředkována osou CRH – ACTH. Ke zvýšení sekrece ACTH (přes CRH i přímo) přispívají i některé zánětlivé cytokiny (IL-1, IL-6, TNF-alfa) (Sternberg et al., 1992).

**Cirkadiánní rytmus sekrece kortizolu.** Pulsatilní sekrece ACTH podléhá cirkadiánní regulaci. Nejvyšší sekrece dosahuje v ranních hodinách před probuzením a při něm, v nočních hodinách dosahuje svého minima. Frekvence sekrečních pulsů je u mužů vyšší než u žen (18 versus 10 pulsů za 24 hodin) (Kronnenberg et al., 2008). K poruše cirkadiánní rytmicity sekrece kortizolu dochází např. při práci na směny či při cestování přes několik časových pásem a k úpravě sekrece někdy dochází až za 2 týdny. Dalším stimulem pro sekreci ACTH je pozření potravy (Kronnenberg et al., 2008).

Porucha (setření) diurnální rytmicity sekrece ACTH/kortizolu je také typická pro hypersekreční stavy – Cushingův syndrom. Tohoto faktu je užíváno v diagnostice. Vyšetření diurnální sekrece kortizolu opakovanými odběry v průběhu dne zjišťujeme, zda je zachována diurnální rytmicity sekrece, zda je přítomen fyziologický noční pokles kortizolu a jaká je absolutní hodnota koncentrace kortizolu v nočních hodinách. Zde je možné využít vyšetření koncentrace kortizolu ve slinách s odběrem provedeným v nočních hodinách, které svým neinvazivním charakterem eliminuje arteficiální vzestup kortizolu při venepunkci.

**Negativní zpětná vazba.** Glukokortikoidy inhibují transkripci genu POMC v adenohipofýze a syntézu a sekreci CRH a ADH v hypothalamu. Uplatňuje se zde jak endogenní kortizol, tak event. exogenní glukokortikoidy. Délka trvání suprese kortikotropní osy exogenními glukokortikoidy závisí na typu, dávce, poločasu, resp. délce podávání daného glukokortikoidu. Navozená suprese kortikotropní osy po dlouhodobé léčbě kortikoidy může trvat několika měsíců.

### 5.12.3. Poruchy sekrece kortizolu

Kortizol jako hlavní lidský glukokortikoid je životně nezbytným hormonem. Jeho nadbytek či nedostatek má vážné zdravotní následky a neléčené stavy kortikální insuficience či hypersekrece mohou mít i fatální následky.

Diagnostika poruchy sekrece kortizolu, nadbytku kortizolu (hyperkortizolismu, Cushingova syndromu) i deficitu kortizolu (hypokortikalismu) je z velké části postavena na stanovení kortizolu v krvi či moči. Ve vyšetření moče stanovujeme močovou exkreci kortizolu (volného či celkového) za definovanou časovou jednotku (obvykle 24 hodin). V případě stanovení kortizolu v krvi (séru) stanovujeme hodnotu ranního kortizolu, hodnotu kortizolu v průběhu dne (hodnocení zachované diurnální



variability sekrece), resp. stanovení kortizolu v séru v nočních hodinách. Ve většině případů je třeba použít dynamické testy. Při podezření na hyperkortizolismus používáme supresní testy se stanovením kortizolu po podání syntetického glukokortikoidu (obvykle dexamethasonu). K ověření deficitu kortizolu je často třeba použít stimulační testy.

Jak pro odběry v rámci ověřování zachované diurnální rytmicity, tak pro stanovení hladiny kortizolu v dynamických testech je možné kromě stanovení sérového kortizolu použít stanovení kortizolu ve slinách.

Tato metoda přináší ve srovnání se stanovením kortizolu v krvi řadu výhod. Odběr je možné provést v domácích podmínkách a metodika eliminuje stres spojený s venepunkcí. Z těchto důvodů je metoda stanovení koncentrace kortizolu ve slinách odebraných v nočních hodinách stala jednou z uznávaných screeningových metod pro diagnostiku hyperkortizolismu (Nieman et al., 2008). Zdá se také, že koncentrace kortizolu ve slinách v nočním odběru je nejcitlivějším ukazatelem recidivy hyperkortizolismu. Stanovení koncentrace kortizolu ve slinách bylo použito i pro monitoraci substituční léčby (Hampl et al., 1990). Další výhodou metody stanovení koncentrace kortizolu ve slinách je fakt, že koncentrace ve slinách odpovídá frakci volného kortizolu v krvi, kterou lze jinak velmi obtížně stanovovat. V některých situacích, o kterých je známo, že jsou spojené se změnami vazebných proteinů pro kortizol, je ale třeba pro vyloučení poruchy sekrece kortizolu znát volnou frakci kortizolu a v těchto situacích je možné použít stanovení kortizolu ve slinách.

#### 5.12.4. Metabolismus kortizolu

Kortizol je v krvi transportován převážně navázaný na bílkoviny a volná frakce představuje méně než 10 % celkové kortizolu. Kortizol je z cca 75 % transportován krví vázaný na cortisol binding globulin (transcortin, CBG) a zbytek je vázaný na albumin.

Poločas kortizolu v cirkulaci se pohybuje mezi 70–120 minutami. Metabolismus kortizolu probíhá zejména v játrech a ledvinách. Před exkrecí močí je kortizol z valné většiny metabolizován a ve volné formě je močí vyloučeno méně než 1 %.

V játrech podléhá kortizol řadě metabolických přeměn, z nichž nejdůležitější je jeho inaktivace 5 $\alpha$  a 5 $\beta$  reduktázou na 5 $\alpha$  a/či 5 $\beta$  dihydrokortizol. Tyto metabolity jsou

pak následně  $3\alpha$  hydroxysteroidní reduktázou (resp.  $3\beta$  hydroxysteroidní reduktázou) konvertovány na  $5\alpha$  tetrahydrocholesterol resp.  $5\beta$  tetrahydrocholesterol. Stejně přeměně podléhá i kortizon (ten vzniká z kortizolu působením  $11\alpha$  hydroxysteroidní dehydrogenázy) konvertovaný na tetrahydrokortizon. Tetrahydrokortizol i tetrahydrokortizon jsou dále přeměňovány na kortikosteroidy. Další metabolickou cestou kortizolu v játrech je působení  $6\beta$  hydroxylázy, kterým vzniká  $6\beta$  hydroxykortizol resp.  $6\beta$  hydroxykortizon. V játrech následně metabolity kortizolu podléhají konjugaci glukuronovou kyselinou, jsou uvolněny do cirkulace a vyloučeny močí.

V ledvinách je přítomný enzym  $11\beta$  hydroxysteroidní dehydrogenáza inaktivující kortizon na kortizol – což je jedna z hlavních metabolických přeměn kortizolu uplatňující se rovněž v periferních tkáních. Tento enzym existuje ve dvou variantách – typ 1 přítomný v játrech, kde mj. konvertuje farmakologicky podávaný kortizon na kortizol.  $11\beta$  hydroxysteroidní dehydrogenáza typu 2 je koexprimována spolu s mineralokortikoidním receptorem v ledvinách, tlustém střevě a slinných žlázách. Takto je enzymaticky mineralokortikoidní receptor chráněn před navázáním kortizolu.

Metabolismus kortizolu podléhá řadě vlivů. Fyziologicky je snížen v dětství a ve stáří. Při renální insuficienci dochází ke snížení exkrece metabolitů kortizolu ledvinami ovšem bez vlivu na hladiny sérového kortizolu. Deficit thyreoideálních hormonů vede ke snížení metabolismu kortizolu, naopak nadbytek metabolismu kortizolu zvyšuje. Vliv thyreoideálních hormonů na metabolismus kortizolu je zprostředkován ovlivněním  $11\beta$ -hydroxysteroidní dehydrogenázy typ 1 a  $5\alpha$  reduktázy.

Do metabolismu kortizolu zasahuje také prostřednictvím IGF-1 růstový hormon. IGF-1 inhibuje jaterní  $11\beta$ -hydroxysteroidní dehydrogenázu. Clearance kortizolu dále snižuje hladovění. Aktivita  $6\beta$ -hydroxylázy je fyziologicky zvýšená u novorozenců a může být akcentována vlivem některým léků (rifampicin, phenytoin).

### 5.12.5. Cortisol binding globulin

CBG je alfa-2 globulin syntetizovaný z 383 aminokyselin v játrech. Gen pro syntézu CBG je lokalizován na 14. chromozomu. Kromě transportu kortizolu se

uplatňuje významně v přenosu celé řady dalších steroidů (kortizon, deoxykortizon, kortikosteron, aldosteron, progesteron).

CBG má výraznou afinitu ke kortizolu na rozdíl od syntetických steroidů, které, s výjimkou prednisonu (který má cca 50 % afinitu k CBG ve srovnání s kortizolem), váže v zanedbatelné míře. Koncentrace CBG v plasmě činí cca 700 nmol/l. Existuje řada faktorů, které významně ovlivňují koncentrace cortisol binding globulinu v krvi a tím ovlivňují, zvyšují či snižují, koncentraci celkového kortizolu. Je známo, že syntézu CBG snižuje inzulin a IL-6. Inzulinová rezistence a zánět tak vedou k poklesu hladin CBG. Hladiny CBG také negativně korelují s věkem (Fernandez-Real et al., 2002). K významnému snížení hladin CBG dochází v kritických stavech jako je sepse či stavech spojených s poruchami či ztrátami bílkovin jako je jaterní cirhóza či nefrotický syndrom (Hamrahan et al., 2004; Arafah 2006). Syntézu CBG naopak zvyšují estrogeny – signifikantně nižší koncentrace nacházíme u mužů (Fernandez-Real et al., 2002). K vzestupu hladin CBG dochází v graviditě a také vlivem užívání estrogenů jako součásti hormonální antikoncepce či hormonální substituční terapie.

### 5.12.6. Kortizol ve slinách

V situacích spojených se změnami koncentrací CBG je často zásadní vyloučit možný hyper či hypokortikalismus, což však při použití stanovení koncentrací celkového kortizolu není možné, resp. jeho aplikovatelnost je velmi limitovaná a může vést k nesprávným diagnostickým závěrům. Řada studií prokázala, že za těchto okolností by bylo přesnější metodou stanovení hladiny volného kortizolu (Hamrahan et al., 2004; Šimůnková et al., 2008). Koncentraci volného kortizolu v séru lze stanovit pracovním laboratorním postupem – pomocí ekvilibrační dialýzy či výpočtem na základě stanovení koncentrace celkového kortizolu a cortisol binding globulinu (free-cortisol index). Nicméně řadu let je známo, že koncentrace kortizolu ve slinách odráží volnou frakci kortizolu (Hiramatsu, 1981), a nabízí se tedy jako možná alternativní metoda pro využití ve stavech, o kterých je známo, že vedou ke změnám koncentrací vazebných proteinů pro kortizol. Další výhodou použití slinného kortizolu je eliminace stresu způsobeného venepunkcí při odběru krve (Meeran et al., 1993).

Větší rozšíření dosud našlo stanovení koncentrace kortizolu ve slinách v diagnostice hyperkortizolismu (stanovení koncentrace kortizolu ve slinách

v nočních hodinách) přičemž v této indikaci byla prokázána vysoká senzitivita a specificita a je uznávanou metodou v diagnostice Cushingova syndromu (Nieman et al., 2008)

Řada prací prokázala možnost využití této laboratorní metody pro diagnostiku deficitu kortizolu, a to jednak stanovením koncentrace bazálního kortizolu (odběr v ranních hodinách), resp. využitím stanovení slinného kortizolu v rámci dynamických (stimulačních testů) (Deutschbein et al., 2009; Cardoso et al., 2007).

## 6. Cíle práce

### 6.1. Cíle 1. části práce

Traumatická poranění mozku jsou závažným zdravotnickým problémem, a to nejen v akutní fázi, ale jsou zdrojem řady dlouhodobých zdravotních a sociálních komplikací a následků. V posledních letech se řada výzkumných týmů zabývala možnými hormonálními poruchami vzniklými po úrazu mozku či subarachnoidálním krvácení.

V první dekádě tohoto století řada studií referovala o relativně vysokém výskytu poruchy hypofyzárních funkcí vzniklých po úrazu mozku či subarachnoidálním krvácení. Metaanalýza Schneider et al. z roku 2007 odhaduje výskyt u TBI a SAK na základě analyzovaných dat na 27,5 % (Schneider et al., 2007 a). Novější práce zaznamenaly výrazně nižší výskyt poruchy hypofýzy po TBI (Kokshoorn et al., 2011) i SAK (Klose et al., 2010; Gardner et al., 2013). Recentně provedené práce poukázaly na zásadní vliv použité metodologie na zjištěnou prevalenci hormonálních deficitů po TBI a SAK. Konkrétně se jedná o vliv použitých testů a referenčních hodnot pro hodnocení deficitu některých hormonů (zejména GH a testosteronu) (Klose et al., 2014).

Chronický subdurální hematom představuje specifický typ traumatického postižení mozku, u kterého kromě samotného primárního poranění vzniklého při vyvolávajícím úrazu dochází k sekundárnímu postižení struktur CNS dlouhodobě působícím tlakem hematomu na struktury mozku s přetlakem středočárových struktur a možným uskřínutím stopky hypofýzy a cévních struktur procházejících diafragmatem tureckého sedla. Tato fakta nás vedla k úvaze o možném vlivu tohoto typu úrazu na funkce hypothalamo-hypofyzární jednotky. Dle dostupných databází vědeckých prací nebyla před námi provedeným výzkumem problematika možného vlivu chronického subdurálního hematomu na funkce hypofýzy zkoumána.

#### **Cílem mé práce bylo zjistit:**

- zda je chronický subdurální hematom spojen se vznikem poruch hypothalamo-hypofyzárních funkcí,

- zda hormonální poruchy zjištěné v akutní fázi přetrvávají při dlouhodobém sledování,
- zda dochází ke vzniku nových deficitů v odstupu od úrazu,
- zda zjištěné hormonální poruchy mají klinické důsledky ve formě potřeby substituce zjištěných deficitů,
- určit faktory, které zvyšují riziko rozvoje hypopituitarismu.

## 6.2. Cíle 2. části práce

Druhým tématem mého studia byla problematika dynamických testů používaných pro diagnostiku hypokortikalismu, konkrétně ACTH testu. Tento test je suverénní metodou pro diagnostiku primárního hypokortikalismu a jak prokázala řada studií (Lindhol et al., 1978; Stewart et al., 1988), lze tento test použít i pro diagnostiku sekundárního hypokortikalismu za situace, kdy od vzniku deficitu endogenní sekrece ACTH uplynula doba nezbytná k rozvoji atrofie kůry nadledvin. Za této situace pak jednorázové podání ACTH nevede k adekvátnímu vzestupu sérového kortizolu.

Existuje celá řada faktorů, která může ovlivňovat hladinu sérového kortizolu prostřednictvím změny koncentrace vazebného proteinu pro kortizol – cortisol binding globulinu. Ke zvýšení hladin CBG dochází například vlivem estrogenů, a to jak endogenních (v graviditě) tak exogenních (jako součást hormonální antikoncepce či hormonální substituční terapie) (Šimůnková et al., 2008; Perogamvros et al. 2010). Ke snížení může dojít v kritických stavech jako je sepse, jaterní cirhóza, nefrotický syndrom (Hamrahian et al., 2004). V uvedených situacích nelze k diagnostice poruchy sekrece kortizolu použít stanovení celkového sérového kortizolu. Stanovení volného sérového kortizolu je však z důvodů časové a ekonomické náročnosti pro běžnou praxi nevyužitelné. Jak bylo opakovaně prokázáno, odráží hladina kortizolu ve slinách volnou frakci sérového kortizolu (Hiramatsu, 1981).

Provedli jsme stanovení koncentrací kortizolu v séru a ve slinách za bazálních podmínek a po stimulaci ACTH ve skupině bez poruchy sekrece kortizolu a ve skupině jedinců s hypokortikalismem.

### **Cílem mé práce bylo zjistit:**

- zda korelují koncentrace kortizolu v séru a ve slinách po stimulaci ACTH,
- zhodnotit využitelnost stanovení slinného kortizolu v ACTH testu pro klinickou praxi,

- statistickou analýzou posoudit, která z metod je v dané situaci přesnější,
- stanovit referenční hodnoty koncentrace kortizolu ve slinách za bazálních podmínek a po stimulaci ACTH.

## 7. Metodologie

### 7.1. Metody použité pro hodnocení poruchy funkce hypofýzy po chirurgickém ošetření chronického subdurálního hematomu

#### 7.1.1. Klinické hodnocení

Před chirurgickým odstraněním a po výkonu bylo provedeno klinické zhodnocení neurologického nálezu (byla posouzena tíže neurologického deficitu).

#### 7.1.2. Zhodnocení nálezů zobrazovacích metod

Na snímcích z CT vyšetření provedeného před operačním zákrokem jsme hodnotili maximální tloušťku hematomu na axiálních řezech, rozsah přesunu středočárových struktur, resp. přítomnost a rozsah oboustranného hematomu.

#### 7.1.3. Endokrinologické vyšetření

Endokrinologická vyšetření byla provedena krátce po výkonu, v odstupu 3 a 12 měsíců po operačním odstranění subdurálního hematomu. Endokrinologické vyšetření spočívalo ve stanovení hladin hormonů za bazálních podmínek a při stimulačních testech.

Za bazálních podmínek (odběr krve ze žíly v ranních hodinách) byly stanoveny koncentrace kortizolu, ACTH, TSH, fT3, fT4, LH, FSH, estradiolu u žen, testosteronu u mužů, prolaktin, a IGF-1. Pro zhodnocení funkce neurohypofýzy jsme stanovali koncentraci natria v séru, osmolalitu séra a moči a sledovali diurézu.

Funkce adenohipofýzy jsme hodnotili na základě dynamických testů:

ACTH test k posouzení kortikotropní osy. ACTH test byl proveden v ranních hodinách. Pacientovi byla zavedena periferní žilní kanyla, proveden odběr krve na stanovení sérového kortizolu. Následně bylo aplikováno 250 mcg tetracosactidu



(Synacthen, Novartis, Basel, Switzerland). Další odběr krve následoval v 30. a 60. minutě.

GHRH-argininový test k zhodnocení sekrece růstového hormonu byl proveden v ranních hodinách po celonočním lačnění pacienta. Pacientovi byl proveden krevní odběr a následně byl aplikován rekombinantně syntetizovaný GHRH (Ferring) v dávce 1 mcg/kg tělesné hmotnosti (max. 200 mcg) a podána krátká infuze s 30 g argininu (Arginin hydrochlorid). Následně byly provedeny odběry krve na stanovení GH (0. min) a další odběry byly provedeny v odstupu 15, 30, 45, 60, 75 a 90 minut.

TRH test k zhodnocení sekrece TSH a prolaktinu spočíval v odběru krve na stanovení TSH a prolaktinu následovaný nitrožilní aplikací 200 mcg rekombinantního syntetizovaného thyreotropin releasing hormonu (TRH, Ferring). Další odběry na stanovení TSH a prolaktinu byly provedeny po 20 a 60 minutách od aplikace.

#### 7.1.4. Laboratorní metody

Ke stanovení sérových koncentrací LH, FSH, estradiol, testosteron, prolaktin, TSH, freeT3 a freeT4 byl použit analyzátor ADVIA Centaur (Siemens, Healthcare Diagnostics Inc, Tarrytown, NY, USA). Hladiny GH a IGF-I byly měřeny pomocí IRMA kitu (Immunotech a.s., Praha, Česká rep.). Senzitivita pro GH činila 0,03 µg/l. Sensitivita pro IGF-I byla 12 µg/l. Sérový kortizol byl stanoven pomocí RIA kitu (Immunotech a.s., Praha, Česká rep.) se senzitivitou 10 nmol. Plazmatické koncentrace ACTH byly měřeny pomocí IRMA kitu (Brahms Diagnostica, Hennigsdorf, Germany) se senzitivitou 1,2 pg/ml. Intra- a inter assay variabilita všech kitů byla méně než 5,0 % resp. 10,0 %.

#### 7.1.5. Hodnocení výsledků testů

Jako adekvátní odpověď v ACTH testu, prokazující dostatečnou funkci kortikotropní osy, byl považován vzestup sérového kortizolu nad 500 nmol/l.

Pro zhodnocení výsledku GHRH argininového testu byly použity referenční meze získané z literatury (Ho, 2007) adjustované na BMI: za normální byl považován vzestup GH nad 11 mcg/l u jedinců s BMI pod 25 kg/m<sup>2</sup>, nad 8 mcg/l při BMI 25–30 kg/m<sup>2</sup> a nad 4 mcg/l při BMI nad 30 kg/m<sup>2</sup>.

V TRH testu bylo použito rozdělení dle věku: ve věkové kategorii pod 40 let byl za normální odpověď považován vzestup TSH nad 6 mIU/l a v kategorii nad 40 let pak vzestup TSH nad 2 mIU/l.

## 7.2. Metody použité pro srovnání spolehlivosti stanovení kortizolu ve slinách v rámci ACTH testu.

### 7.2.1. ACTH test

ACTH test byl proveden v ranních hodinách (mez 8:00–9:00). Test byl proveden po minimálně 8 hodinách lačnění a před testem byli pacienti poučeni o nutnosti vyvarovat se kouření a čištění zubů minimálně 60 minut před zahájením testu. Pacientovi byla zavedena periferní žilní kanyla minimálně 30 minut před zahájením testu. Poté byla pacientovi odebrána krev a byl odebrán vzorek slin spontánním sliněním do zkumavky Salivette (Sarstedt Nümbrecht, Německo). Po počátečním odběru krve a slin na stanovení sérového kortizolu bylo do periferní žilní kanyly aplikováno 250 mcg tetracosactidu ( $\beta_{1-24}$  ACTH, Synacthen, Novartis, Basilej, Švýcarsko). Další odběr krve následoval v 30. a 60. minutě.

### 7.2.2. Laboratorní metody

Sérový kortizol byl měřen pomocí komerčního RIA kitu (Immunotech, Marseille, Francie) se senzitivitou 10 nmol/l. Intra- a inter assay variabilita byla méně než 5,0 % resp. 10,0 %. Kortizol ve slinách byl měřen pomocí komerční kompetitivní immunoenzymatické kolorimetrické metody dle instrukce výrobce (DiaMetra, Milano, Itálie) se senzitivitou 0,14 nmol/l. Intra a inter assay variabilita byla méně než 5,0 %, resp. 10 %.

Detailní popis výběru pacientů, statistického zpracování a další metodologické podrobnosti jsou popsány v příložených publikacích v následující kapitole.

## 8. Vlastní výsledky výzkumné práce

### 8.1. Poruchy funkce hypofýzy u pacientů s chronickým subdurálním hematodem

**Hypotéza:** Řada prací prokázala souvislost mezi kraniocerebrálním traumatem a rizikem rozvoje hypopituitarismu. Existují také důkazy prokazující možnou souvislost mezi subarachnoidálním krvácením a hypopituitarismem s někdy uváděným vyšším výskytem než u kraniocerebrálních traumat (37,5–55 %). Podle některých prací mohou i neurochirurgické zákroky na strukturách vzdálených od sellární oblasti mít vliv na funkci hypofýzy.

Dle dosud dostupné literatury však zatím nebyla zkoumána možná souvislost mezi chronickým subdurálním hematodem a možným rizikem vlivu tohoto specifického typu kraniocerebrálního traumatu na hypofyzární funkce. S ohledem na patofyziologické okolnosti spojené s chronickým subdurálním hematodem (dlouhodobě působící, expansivně se chovající kolekce krve vedoucí k přetlaku středočárových struktur mozku s kompresí stopky a cév, event. přítomný edém mozku) by bylo možné tento vliv předpokládat.

**Soubor pacientů a metody:** Ve spolupráci s neurochirurgickými pracovišti jsme vyšetřili celkem 59 jedinců (49 mužů, 10 žen). Průměrný věk v našem souboru činil 68,3 let, medián byl 72 let, při věkovém rozmezí 36-88 let. 10 pacientů jsme vyšetřili retrospektivně tj. jednorázově v odstupu 12 měsíců od chirurgického ošetření subdurálního hematomu.

**Metodika:** Před a po výkonu byl hodnocen a zaznamenán neurologický nález (tíže deficitu). Na základě předoperačního CT jsme zhodnotili maximální tloušťku hematomu na axiálních řezech, rozsah přesunu středočárových struktur, resp. přítomnost bilaterálního hematomu. Pacienty jsme endokrinologicky vyšetřili krátce po chirurgickém ošetření subdurálního hematomu (5.–7. den po operaci), dále v odstupu 3 a 12 měsíců. Byly stanoveny bazální hladiny jednotlivých hormonů

(kortizol, ACTH, TSH, free T3, free T4, LH, FSH, estradiol u žen, testosteron u mužů, prolaktin, IGF-1) a byly provedeny stimulační testy pro přesné zhodnocení jednotlivých hypofyzárních trojných funkcí. Kortikotropní osu jsme testovali pomocí ACTH testu, thyreotropní osu jsme testovali pomocí TRH testu a sekreci GH jsme hodnotili prostřednictvím GHRH-argininového testu.

K posouzení možného deficitu či nadbytku ADH jsme vycházeli z hodnot natremie, osmolality séra a sledované bilance tekutin.

**Výsledky a souhrn:** Grafické hodnocení: průměrná tloušťka subdurálního hematomu na axiálních CT snímcích byla v naší skupině 20 mm  $\pm$ 6 (SD), medián 20,5 při maximální tloušťce 33 a minimální 9 mm. Oboustranný subdurální hematom byl v našem souboru zjištěn v 11 případech (19 %). Průměrný přesun středočárových struktur byl 8,3 $\pm$ 5,4 mm (rozmezí 0–20 mm, medián 8,8 mm). Nulový přesun středočárových struktur byl přítomen v 6 případech – ve všech se jednalo o bilaterální subdurální hematom.

U 41 pacientů došlo po operaci k restituci neurologických projevů ad integrum. U 8 jedinců byla úprava deficitu pouze parciální.

V časném pooperačním období jsme nezaznamenali žádný případ hypokortikalismu, hypothyreózy či diabetes insipidus. U 23 jedinců byla zjištěna porucha sekrece růstového hormonu a u 9 byl zjištěn hypogonadismus. Při kontrole po 3 měsících od operace byl u 2 pacientů zjištěn nedostatečný vzestup sérového kortizolu v ACTH testu (maximální hladina dosažená po aplikaci ACTH byla pod 500 nmol/l) nicméně při kontrolním vyšetření s odstupem 1 měsíce se tento deficit nepotvrdil. V tomto období byl hypogonadismus přítomen u 2 osob. GHRH-argininový test prokázal nedostatečný vzestup růstového hormonu po stimulaci v tomto období po operaci u 16 účastníků.

Po 12 měsících byl hypogonadismus přítomen u 3 osob, deficit GH u 15. Hypokortikalismus a hypothyreóza po 12 měsících zjištěny nebyly. Stejně tak jsme nezaznamenali rozvoj poruchy sekrece antidiuretického hormonu.

Sdružený deficit GH a testosteronu byl přítomen u 7 pacientů v akutní fázi, u 1 po 3 měsících a u 2 pacientů vyšetřených s ročním odstupem od operace Tab. č. 6)

Tab č. 6: Individuální zhodnocení endokrinních poruch.

<b>Postižená osa</b>	<b>Počet případů</b>		
	<b>0 (n=49)</b>	<b>3M (n=37)</b>	<b>12M (n=22 + 10 retrospektivně)</b>
<i>Hypokortikalismus</i>	0	2 (5,4%) (parciální)	0
<i>Centrální hypothyreóza</i>	0	0	0
<i>Centrální hypogonadismus</i>	9 (25,7%) (n=35)	2 (7,1%) (n=28)	3 (12%) (n=25)
<i>Deficit růstového hormonu</i>	23 (46,9%)	16 (43,2%)	15 (46,9%)
<i>Porucha sekrece ADH</i>	0	0	0

Statistická analýza neprokázala žádnou statisticky významnou korelaci mezi klinickým stavem před operací či nálezem na CT (přesun středočárových struktur, který by mohl být parametrem vyjadřujícím tíži postižení CNS subdurálním hematomem) a hormonálním profilem pacientů v našem souboru.

Článek byl publikován v časopise *Physiological Research*. Kompletní znění článku je přiloženo v anglickém jazyce.

# Hypothalamo-Pituitary Dysfunction in Patients With Chronic Subdural Hematoma

V. HÁNA<sup>1</sup>, M. KOSÁK<sup>1</sup>, V. MASOPUST<sup>2</sup>, D. NETUKA<sup>2</sup>, Z. LACINOVÁ<sup>1</sup>, M. KRŠEK<sup>1</sup>, J. MAREK<sup>1</sup>, L. PECEN<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Third Department of Internal Medicine of General Faculty Hospital and Faculty of Medicine 1, Charles University, Prague, Czech Republic, <sup>2</sup>Department of Neurosurgery, Military Hospital and Faculty of Medicine 1, Prague, Czech Republic, <sup>3</sup>Institute of Computer Science, Academy of Sciences of Czech Republic, Prague, Czech Republic

Received November 17, 2011

Accepted January 19, 2012

On-line January 31, 2012

## Summary

Relatively frequent pituitary hormone deficiencies are observed after traumatic brain injury (TBI) and subarachnoid hemorrhage (SAH) and according to the published studies the neuroendocrine consequences of traumatic brain injury are underdiagnosed. In a cohort of 59 patients (49 males, mean age 68.3 years, 36-88 years) after evacuation of subdural hematoma (SDH) were evaluated hypothalamo-pituitary functions one week after surgery, after three months and after one year. Hypogonadism was present in 26 % of patients in an acute phase, but in the majority had a transient character. Less than half of patients was GH deficient (GHD) according to the GHRH+arginine test. We did not find any serious case of hypocortisolism, hypothyroidism, diabetes insipidus centralis nor syndrome of inappropriate secretion of ADH (SIADH). Transient partial hypocortisolism was present in two cases, but resolved. We did not find relation between extension of SDH or clinical severity and development of hypopituitarism. In conclusion, in some patients with SDH growth hormone deficiency or hypogonadism was present. No serious hypocortisolism, hypothyroidism, diabetes insipidus nor SIADH was observed. The possibility of neuroendocrine dysfunction should be considered in patients with SDH, although the deficits are less frequent than in patients after TBI or SAH.

## Key words

Hypopituitarism • Subdural hematoma • Brain injury • Growth hormone deficiency

## Corresponding author

V. Hána, Third Department of Internal Medicine of General

Faculty Hospital and Faculty of Medicine 1, Charles University, U nemocnice 1, 128 08 Prague 2, Czech Republic. E-mail: vhana@lf1.cuni.cz

## Introduction

Traumatic brain injuries (TBI) are a serious health problem with a frequency of 235/100 000 persons per year (Tagliaferri *et al.* 2006). The patients are endangered in an acute phase, but also due to chronic consequences. Among these belong orthopedic, neurologic, psychiatric and also endocrinological complications. The percentage of pituitary deficits after traumatic brain injury is quite high and it is estimated that this sequelae is underdiagnosed. In the metaanalysis of Schneider *et al.* (2007) was hypopituitarism observed in 15.4-50 % in a chronic phase after TBI (hypocortisolism in 2.6-19.2 %, hypothyroidism in 1-10 %, hypogonadism in 1.9-20 % and growth hormone deficiency (GHD) in 5.9-32.7 %). After subarachnoid hemorrhage was the frequency of hypopituitarism even higher (37.5-55 %).

Brain injury leads to brain edema, increased intracranial pressure, hemorrhages, microinfarctions, fibrosis in hypothalamus and pituitary (Harper *et al.* 1986, Salehi *et al.* 2007). In the late phase after TBI an autoimmune process in the pituitary is expected as the cause of some further hypopituitarisms (Tanriverdi *et al.* 2008). Similar conditions could be expected in patients with subdural hemorrhages, where preceding trauma, compression of the brain, shift of midline structures,

possible compression of nutritive arteries and veins might compromise the structures of hypothalamo-pituitary endocrine unit. For these reasons we undertook this first study focused on neuroendocrine functions in patients operated for chronic subdural hematomas (SDH).

## Patients and Methods

### Patients

We examined in cooperation with Department of Neurosurgery 59 patients (49 males, mean age  $68.3 \pm 12.87$  (S.D.) years, median age 72 years, range 36-88 years, BMI  $26.5 \text{ kg/m}^2$ , range 18-37.6) operated for SDH. Forty-nine consecutive patients (41 males, mean age  $66.8 \pm 13.0$  years, median age 70.0 years, range 36-88 years, BMI  $26.8 \text{ kg/m}^2$ , range 18-37.6) were examined prospectively – first week after surgery, after three months and after 12 months. Ten patients (8 males, mean age  $75.9 \pm 7.6$  years, median age 78 years, range 64-86 years, BMI  $25.2 \text{ kg/m}^2$ , range 22.4-30.5) were evaluated after one year after surgery for SDH only.

In 13 patients in our group a trauma as clear cause of the subdural hematoma was found. In those patients a mean interval between the trauma and diagnosis of the subdural hematoma was 42.3 days (range 4-110 days). Alcohol abuse was present in the history of five patients.

### Methods

The neurological status and its dynamics was evaluated before and after surgery for SDH. Midline structures shift and thickness of SDH was evaluated on CT scans.

In the mentioned intervals was evaluated basic biochemistry (minerals, renal functions, AST, ALT, ALP, GGT, bilirubin, glycemia) and hypothalamo-pituitary endocrine functions by measurement of basal values of hormones LH, FSH, testosterone/estradiol, freeT3, freeT4, TSH, prolactin, ACTH, IGF-1, cortisol and by dynamic testing. ACTH (Synacthen 250  $\mu\text{g}$ ) test, growth hormone releasing hormone (GHRH) + arginine test (1  $\mu\text{g}$  GHRH/ kg of body weight i.v. + 30 g of arginine hydrochloride in 30 minute infusion; blood samples in 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90 min) and TRH test (200  $\mu\text{g}$  TRH i.v.; blood samples in 0, 20, 60 min) were used.

Standard biochemical tests were done on analyser Modular Analytics EVO (Hitachi, Japan). LH, FSH, estradiol, testosterone, prolactin, TSH, freeT3 and freeT4 were assayed by ADVIA Centaur (Siemens,

Healthcare Diagnostics Inc, Tarrytown, NY, USA), with chemiluminometric detection. FSH, LH, prolactin and TSH were determined by sandwich immunoanalysis with direct chemiluminometric technology; for estradiol, testosterone, free T3 and freeT4 competitive immunoanalysis, direct chemiluminometric technology was also used. Serum GH and IGF-I concentrations were measured by IRMA kits (IMMUNOTECH a.s., Prague, Czech Republic), following the manufacturer's instructions. Sensitivity for GH was 0.03  $\mu\text{g/l}$ . Sensitivity for IGF-I was 12  $\mu\text{g/l}$ . Serum cortisol levels were measured by commercial RIA kit ((IMMUNOTECH a.s., Prague, Czech Republic). Sensitivity was 10 nM. Plasma ACTH levels were measured by IRMA kits (Brahms Diagnostica, Hennigsdorf, Germany). Sensitivity was 1.2 pg/ml. The intra- and interassay variability of all kits was less than 5.0 % and 10.0 % respectively.

As an adequate response in ACTH test was considered maximal cortisol value of 550 nmol/l (Clark *et al.* 1998). In GHRH+arginine test these cutoff levels for GHD were considered according to the patients' body mass index (BMI): with BMI < 25  $\text{kg/m}^2$  a peak GH < 11  $\mu\text{g/l}$ , with BMI 25-30  $\text{kg/m}^2$  a peak GH < 8  $\mu\text{g/l}$  and with BMI > 30  $\text{kg/m}^2$  a peak GH < 4  $\mu\text{g/l}$  (Ho *et al.* 2007). The increase in TSH after TRH at least 6 mU/l in males and females younger than 40 years of age and 2 mU/l in older than 40 years was defined as normal. Evaluation of central hypothyroidism was based on complex evaluation of thyroid hormones and TSH values. Central hypogonadism was evaluated only in relevant situations (patients after menopause and males with peripheral hypogonadism were excluded). Reference testosterone values in our laboratory are 9.9-28 nmol/l for men of age below 50 years. The evaluation of hypogonadism in older age is not straightforward. Although the decline of mean testosterone values with age is known, there are no generally accepted lower limits of normal values for elderly males (Wang *et al.* 2008). However there is consensus of clinically important cutoff for total testosterone of 8 nmol/l, below which symptomatic males usually benefit from testosterone replacement and we decided to use this limit for patients over 50 years in this evaluation (Wang *et al.* 2008).

Evaluation of DI and SIADH was also performed. In patients where concomitant medication could influence the results of hormonal tests, the influenced axis was not evaluated (i.e. thyroxin replacement for peripheral hypothyroidism etc.).

All the protocol was in accordance with the

Declaration of Helsinki (2000) of the World Medical Association and was approved by the Ethics Committee of General Faculty Hospital in Prague.

#### Statistical analysis

Statistical analysis was performed using SAS 9.2 software (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). The statistical results on comparing different time-points were calculated using a Wilcoxon Signed Rank test due to non-gaussian distribution of many of analyzed parameters. Analysis of the relationship between various continuous variables was done using Spearman rank correlation coefficient. P-values were considered statistically significant at the 0.05 level.

## Results

Maximal thickness of SDH and shift of the midline structures was described and quantified on preoperative CT scans. The maximal thickness of SDH was 33 mm, minimal thickness was 9 mm, mean 20±6 (S.D.) mm, median 20.5 mm. Bilateral SDH was found in 11 cases. Mean shift of the midline structures in our group was 8.3±5.4 mm (range 0-20 mm, median 8.8). Six patients had no shift of the midline structures – all of them had bilateral subdural hematomas.

**Table 1.** The frequency of each type of neurological finding before operation.

Clinical presentation	Frequency (No. of patients) n=49
Mild paresis (mono or hemi)	16
Moderate paresis (mono or hemi)	4
Severe paresis (mono or hemi)	1
Hemiplegia	0
Speech disorder	5
Alteration of the mental status +	10
Other neurological symptom ++	14

+ Alteration of the mental status – confusion, bradypsychia, ++ Other neurological symptom – headache, worse memory, dyscoordination, instability, falls, reduced unilateral sensitivity.

In collaboration with neurosurgeons a neurological status was evaluated (Table 1). Neurological status was evaluated before the operation and again soon after the operation in a prospectively followed group. The most common finding was mild mono or hemiparesis

diagnosed in 16 patients. In 41 patients the operation led to complete restitution of the neurological deficit, in 8 patients was the reparation partial.

#### Individual evaluation of hormonal status (Table 2)

Analysis of the hormonal status immediately after the surgery revealed no evidence of hypocortisolism, hypothyroidism or diabetes insipidus. In 23 patients was the dynamic test in agreement with the diagnosis of GHD and in 9 cases central hypogonadism was present.

At 3 months' evaluation we found a subnormal response of cortisol in ACTH test (maximal cortisol value was slightly below 500 nmol/l) in 2 patients, but control tests one month later showed a normal response. Central hypogonadism was present in two patients. Response of GH in GHRH+arginine test was insufficient in 16 cases.

**Table 2.** Evaluation of hormonal status – number of deficiencies.

	Number of deficiencies		
	first week after surgery (n=49)	3 months (n=37)	12 months (n=32)
<i>Hypocortisolism</i>	0	2 (mild, transient)	0
<i>Hypothyroidism</i>	0	0	0
<i>Central hypogonadism</i>	9 (n=35)	2 (n=28)	3 (n=25)
<i>Growth hormone deficiency</i>	23	16	15
<i>Hypogonadism + growth hormone def.</i>	7	1	2
<i>Diabetes insipidus centralis/SIADH</i>	0	0	0

n – number of assessable patients.

At 12 months (analyzed both groups – prospective and retrospective) no hypocortisolism or hypothyroidism was diagnosed, 3 patients were hypogonadal and 15 had GHD. There was no case of DI or SIADH in any phase of the study.

Both hypogonadism and GHD was present in 7 patients in an acute phase, 1 after 3 months (the second hypogonadal patient refused GHRH+arginine test) and in 2 patients after a year.



**Table 3.** Hormonal values of the whole group ( $\bar{x} \pm S.D.$ ).

	First week after surgery (n=49)	3 months (n=37)	12 months (n=32)
Basal cortisol (nmol/l)	517 ± 130	445 ± 142 §	431 ± 121 §
Maximal cortisol in ACTH test (nmol/l)	981 ± 209	917 ± 217	903 ± 184
Free T4 (pmol/l)	15.1 ± 2.4	14.0 ± 2.4	15.1 ± 1.7
Testosterone (nmol/l)	12.0 ± 5.1	15.7 ± 5.7	13.4 ± 5.6
Maximal TSH in TRH test	8.1 ± 5.2	9.8 ± 5.8 §§§	11.1 ± 7.0 §§§

§ P<0.01 - against day 0, §§§ P<0.05 % - against day 0.

Head trauma as a clear cause of subdural hematoma was present in the history of 13 patients. In two of these patients was GHD present permanently and in four other was GHD and/or hypogonadism present transiently.

There was a problematic compliance during the study period in some patients and it increased with time. Although we contacted all the patients, only part of them agreed with repeated examination. Some non-compliant SDH patients did not feel health problems and others suffered from some other concomitant disease and refused further examination after 3 and 12 months.

#### *Analysis of the hormonal status of the whole group (Table 3)*

Statistical analysis of the maximal response of GH in GHRH+arginine test showed different behavior for values in prospective individual assessment and for results of group analysis and this disabled statistical evaluation.

Analyzing the relationship between various variables and the clinical status, we found significant correlation between basal TSH value and maximal TSH value in TRH test ( $r=0.82$ ,  $p<0.001$ ). There was no correlation between midline structures shift, which could represent the severity of trauma of midline structures, and the hormonal values nor any other analyzed parameters.

## Discussion

The majority of clinical studies have demonstrated that TBI and SAH frequently cause neuroendocrine dysfunction in adults and also in children and adolescents (Čáp 2006, Schneider *et al.* 2007, Aleksijević *et al.* 2010, Krahulik *et al.* 2010, Zapletalová

*et al.* 2010, Kosák and Hána 2011). In accordance with this observation is also the recently published analysis of large German and Austrian registry (Schneider *et al.* 2011). The structures of hypothalamus and pituitary appear to be very sensitive to trauma and vascular insult in the acute phase (Benvenga *et al.* 2000, Salehi *et al.* 2007) and the participation of autoimmune process in the chronic phase is assumed (Tanriverdi *et al.* 2010a). Relationship between severity of trauma and hormonal dysfunction have been observed by some (Bondanelli *et al.* 2004, Klose *et al.* 2007) but not by others (Agha *et al.* 2004, Aimaretti *et al.* 2005, Schneider *et al.* 2006). It has been clearly demonstrated that even mild TBI can cause neuroendocrine dysfunction (Tanriverdi *et al.* 2010b). Hypothalamo-pituitary dysfunction was described even in association with brain operation of distant structures (DeMarinis *et al.* 2006).

This is the first study focused on patients with chronic subdural hematoma in which we prospectively evaluated neuroendocrine functions during one year after evacuation of SDH. We did not observe in our cohort during the whole study any serious dysfunction of adrenocortical or thyroid axes and no diabetes insipidus or SIADH, except of two cases of subnormal cortisol response in ACTH test in 3 months' testing. These two patients had maximal stimulated cortisol slightly below 500 nmol/l, but in a control test one month later was the response again normal.

Slight, but significant increase of mean basal cortisol first week after surgery could be simply a marker of stress.

Similarly to TBI studies we observed quite frequently dysfunction in gonadotrophic axis and growth hormone secretion, especially in an acute phase. Growth hormone deficiency according to GHRH+arginine test

was the most frequent in our group. Recovery of gonadotrophin secretion after the acute phase appeared in the majority of patients. The time course of central hypogonadism was recently exactly described in an acute phase after brain trauma. Study of Wagner *et al.* (2010) revealed that within 10 days of complicated mild, moderate, and severe TBI, testosterone suppression occurred in all men and estrogen suppression occurred in over 40 % of women.

Chronic subdural hematoma most frequently occurs in older males (Kanat *et al.* 2010). We are aware that evaluation of gonadotrophin axis and especially of GH secretion, in our cohort with a mean age of 68 years is rather complicated. The activity of both axes declines with age and is influenced by non-endocrine factors like for instance comorbidities, obesity etc. It is likely that function of gonadotrophic axis is a marker of general health (Araujo *et al.* 2011). Establishing in this group of patients with various comorbidities the diagnosis of GHD and hypogonadism caused strictly by SDH is sometimes impossible. Replacement therapy of these axes in older people is for the mentioned reasons also limited. Nevertheless not all patients were of advanced age. Evaluating patients younger than 60 years of age there was GHD in an acute phase in 4/14 (GHD/evaluated patients under 60), after 3 months 3/10 and after 12 months in 2/8 patients. In one 36 years old patient with confirmed severe GHD was GH replacement commenced.

We also analyzed the relationship between extension of SDH or clinical severity and development of hypopituitarism, but we did not find any association. From our results it was not possible to identify patients more susceptible to hypopituitarism after SDH on the basis of their clinical status or a CT scan.

Comparing results in our cohort with TBI or SAH studies is complicated by substantially higher age and more confounding comorbidities in our group. Nevertheless it is obvious that we observed less severe neuroendocrine dysfunction after SDH than it was published after TBI. In a prospective study after TBI had subnormal cortisol response 16 % of patients in an acute phase and 18 % after 6 and 12 months and hypothyroidism was present in 2 % (Agha *et al.* 2005). We observed no serious deficiency in corticotrophic axis. We also did not observe disturbance in thyrotrophic axis, or diabetes insipidus or SIADH. Comparing the gonadotrophic axis and GH secretion is impossible for the above mentioned reasons of different groups of patients.

How to explain less pituitary dysfunction in

SDH patients in relation to TBI and SAH? We propose that there could be several reasons. As the chronic SDH is typical for older persons, some brain atrophy diminishes the pressure of SDH on brain structures. The other reason could be in a slowly developing SDH (most frequently for at least several weeks) providing time for adaptation of possible vascular mechanisms, which could cause the injury of hypothalamic and pituitary structures. We must also admit that not all published studies prove a high frequency of hypopituitarism after brain insult. Klose *et al.* (2010) did not find any chronic hypopituitarism in 62 patients after subarachnoid hemorrhage and recently published study evaluating neuroendocrine functions in children after structural TBI in early childhood did not find any permanent hypopituitarism in almost 200 children (Heather *et al.* 2012).

We think that patients with SDH, especially those with head trauma in the history, should be managed like patients with mild TBI (Tanriverdi *et al.* 2010b). Despite we did not find any hypocortisolism in our cohort, we are aware of limited cohort of our patients and we believe that an evaluation of ACTH axis should be done in an acute phase on clinical basis and measurement of basal cortisol. Measurement of free thyroid hormones should be done in this phase also. In the chronic phase all the pituitary hormones and hormones of regulated glands should be measured and in clinical context using of appropriate dynamic tests should be considered.

In conclusion, results of our study showed no serious hypocortisolism, hypothyroidism, diabetes insipidus or SIADH in patients operated for chronic subdural hematoma. Severe GHD was present in less than half of patients. Central hypogonadism was diagnosed in a quarter of patients in an acute phase, but recovered in the majority of them during the follow up. The possibility of neuroendocrine dysfunction should be considered in patients with SDH, although the deficits are less frequent than in patients after TBI or SAH.

### Conflict of Interest

There is no conflict of interest.

### Acknowledgements

We thank doctors L. Pekař and R. Leško for referring patients. We very acknowledge analyses of blood samples managed by Ing. Springer and Mgr. Uhrová and technical laboratory assistance of Hana Frydlová. The project was supported by a grant of Czech Ministry of Health NS 9794-4.

## References

- AGHA A, ROGERS B, SHERLOCK M, O'KELLY P, TORMEY W, PHILLIPS J, THOMPSON CJ: Anterior pituitary dysfunction in survivors of traumatic brain injury. *J Clin Endocrinol Metab* **89**: 4929-4936, 2004.
- AGHA A, PHILLIPS J, O'KELLY P, TORMEY W, THOMPSON CJ: The natural history of post-traumatic hypopituitarism: implications for assessment and treatment. *Am J Med* **118**: 1416.e1-1416.e7, 2005.
- AIMARETTI G, CORNELI G, RAZZORE P, BELLONE S, BAFFONI C, ARVAT E, CAMANNI F, GHIGO E: Comparison between insulin-induced hypoglycemia and growth hormone (GH)-releasing hormone + arginine as provocative tests for the diagnosis of GH deficiency in adults. *J Clin Endocrinol Metab* **83**: 1615-1618, 1998.
- AIMARETTI G, AMBROSIO MR, DI SOMMA C, GASPERI M, CANNAVÒ S, SCARONI C, FUSCO A, DEL MONTE P, DE MENIS E, FAUSTINI-FUSTINI M, GRIMALDI F, LOGOLUSO F, RAZZORE P, ROVERE S, BENVENGA S, DEGLI UBERTI EC, DE MARINIS L, LOMBARDI G, MANTERO F, MARTINO E, GIORDANO G, GHIGO E: Residual pituitary function after brain injury-induced hypopituitarism: a prospective 12-month study. *J Clin Endocrinol Metab* **90**: 6085-6092, 2005.
- ALEKSIJEVIČ D, ZAPLETALOVÁ J, SMOLKA V, KLÁSKOVÁ E, WIEDERMANN J, KRAHULÍK D, VAVERKA J, FRYŠÁK Z: Neuro-endocrine dysfunction in children and adolescents after brain injury (in Czech). *Cesk Slov Neurol Neurochir* **73**: 409-414, 2010.
- ARAUJO AB, DIXON JM, SUAREZ EA, MURAD MH, GUEY LT, WITTERT GA: Endogenous testosterone and mortality in men: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* **96**: 3007-3019, 2011.
- BENVENGA S, CAMPENÍ A, RUGGERI RM, TRIMARCHI F: Clinical review 113: Hypopituitarism secondary to head trauma. *J Clin Endocrinol Metab* **85**: 1353-1361, 2000.
- BONDANELLI M, DE MARINIS L, AMBROSIO MR, MONESI M, VALLE D, ZATELLI MC, FUSCO A, BIANCHI A, FARNETI M, DEGLI UBERTI EC: Occurrence of pituitary dysfunction following traumatic brain injury. *J Neurotrauma* **21**: 685-696, 2004.
- CLARK PM, NEYLON I, RAGGATT PR, SHEPPARD MC, STEWART PM: Defining the normal cortisol response to the short Synacthen test: implications for the investigation of hypothalamic-pituitary disorders. *Clin Endocrinol (Oxf)* **49**: 287-292, 1998.
- ČÁP J: Hormonal diseases after traumatic brain injury (in Czech). *Vnit Lék* **52**: 941-946, 2006.
- DEMARINIS L, FUSCO A, BIANCHI A, AIMARETTI G, AMBROSIO MR, SCARONI C, CANNAVO S, DI SOMMA C, MANTERO F, DEGLI UBERTI EC, GIORDANO G, GHIGO E: Hypopituitary findings in patients with primary brain tumors 1 year after neurosurgical treatment: preliminary report. *J Endocrinol Invest* **29**: 516-522, 2006.
- HARPER CG, DOYLE D, ADAMS JH, GRAHAM DI: Analysis of abnormalities in pituitary gland in non-missile head injury: study of 100 consecutive cases. *J Clin Pathol* **39**: 769-773, 1986.
- HEATHER NL, JEFFERIES C, HOFMAN PL, DERRAIK JG, BRENNAN C, KELLY P, HAMILL JK, JONES RG, ROWE DL, CUTFIELD WS: Permanent hypopituitarism is rare after structural traumatic brain injury in early childhood. *J Clin Endocrinol Metab* **97**: 599-604, 2012.
- HO KK on behalf of the 2007 GH Deficiency Consensus Workshop Participants: Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of adults with GH deficiency II: a statement of the GH Research Society in association with the European Society for Pediatric Endocrinology, Lawson Wilkins Society, European Society of Endocrinology, Japan Endocrine Society, and Endocrine Society of Australia. *Eur J Endocrinol* **157**: 695-700, 2007.
- KANAT A, KAYACI S, YAZAR U, KAZDAL H, TERZI Y: Chronic subdural hematoma in adults: why does it occur more often in males than females? Influence of patient's sexual gender on occurrence. *J Neurosurg Sci* **54**: 99-103, 2010.
- KLOSE M, JUUL A, STRUCK J, MORGENTHALER NG, KOSTELJANETZ M, FELDT-RASMUSSEN U: Acute and long-term pituitary insufficiency in traumatic brain injury: a prospective single-centre study. *Clin Endocrinol (Oxf)* **67**: 598-606, 2007.
- KOSÁK M, HÁNA V: Hypothalamo-pituitary dysfunction following traumatic brain injury and spontaneous subarachnoid haemorrhage (in Czech). *Cesk Slov Neurol Neurochir* **74**: 286-291, 2011.

- KRAHULIK D, ZAPLETALOVA J, FRYSAK Z, VAVERKA M: Dysfunction of hypothalamic-hypophysial axis after traumatic brain injury in adults. *J Neurosurg* **113**: 581-584, 2010.
- SALEHI F, KOVACS K, SCHEITHAUER BW, PFEIFER EA, CUSIMANO M: Histologic study of the human pituitary gland in acute traumatic brain injury. *Brain Inj* **21**: 651-656, 2007.
- SCHNEIDER HJ, SCHNEIDER M, SALLER B, PETERSENN S, UHR M, HUSEMANN B, VON ROSEN F, STALLA GK: Prevalence of anterior pituitary insufficiency 3 and 12 months after traumatic brain injury. *Eur J Endocrinol* **154**: 259-265, 2006.
- SCHNEIDER HJ, KREITSCHMANN-ANDERMAHR I, GHIGO E, STALLA GK, AGHA A: Hypothalamopituitary dysfunction following traumatic brain injury and aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review. *JAMA* **298**: 1429-1438, 2007.
- SCHNEIDER HJ, SCHNEIDER M, KREITSCHMANN-ANDERMAHR I, TUSCHY U, WALLASCHOFSKI H, FLECK S, FAUST M, RENNER CI, KOPCZAK A, SALLER B, BUCHFELDER M, JORDAN M, STALLA GK: Structured assessment of hypopituitarism after traumatic brain injury and aneurysmal subarachnoid hemorrhage in 1242 patients: the German interdisciplinary database. *J Neurotrauma* **28**: 1693-1698, 2011.
- TAGLIAFERRI F, COMPAGNONE C, KORSIC M, SERVADEI F, KRAUS J: A systematic review of brain injury epidemiology in Europe. *Acta Neurochir* **148**: 255-268, 2006.
- TANRIVERDI F, DE BELLIS A, BIZZARRO A, SINISI AA, BELLASTELLA G, PANE E, BELLASTELLA A, UNLUHIZARCI K, SELCUKLU A, CASANUEVA FF, KELESTIMUR F: Antipituitary antibodies after traumatic brain injury: is head trauma-induced pituitary dysfunction associated with autoimmunity? *Eur J Endocrinol* **159**: 7-13, 2008.
- TANRIVERDI F, DE BELLIS A, BATTAGLIA M, BELLASTELLA G, BIZZARRO A, SINISI AA, BELLASTELLA A, UNLUHIZARCI K, SELCUKLU A, CASANUEVA FF, KELESTIMUR F: Investigation of antihypothalamus and antipituitary antibodies in amateur boxers: is chronic repetitive head trauma-induced pituitary dysfunction associated with autoimmunity? *Eur J Endocrinol* **162**: 861-867, 2010a.
- TANRIVERDI F, UNLUHIZARCI K, KELESTIMUR F: Pituitary function in subjects with mild traumatic brain injury: a review of literature and proposal of a screening strategy. *Pituitary* **13**: 146-153, 2010b.
- WAGNER J, DUSICK JR, McARTHUR DL, COHAN P, WANG C, SWERDLOFF R, BOSCARDIN WJ, KELLY DF: Acute gonadotroph and somatotroph hormonal suppression after traumatic brain injury. *J Neurotrauma* **27**: 1007-1019, 2010.
- WANG C, NIESCHLAG E, SWERDLOFF R, BEHRE HM, HELLSTROM WJ, GOOREN LJ, KAUFMAN JM, LEGROS JJ, LUNENFELD B, MORALES A, MORLEY JE, SCHULMAN C, THOMPSON IM, WEIDNER W, WU FC: Investigation, treatment and monitoring of late-onset hypogonadism in males: ISA, ISSAM, EAU, EAA and ASA recommendations. *Eur J Endocrinol* **159**: 507-514, 2008.
- ZAPLETALOVÁ J, ALEKSIJEVIC D, SMOLKA V, KRAHULÍK D, FRYŠÁK Z: Post-traumatic hypopituitarism in children and adolescents (in Czech). *Cesk Slov Neurol Neurochir* **73**: 398-401, 2010.
-

## 8.2. Sérový a slinný kortizol při hodnocení adrenokortikální rezervy pomocí ACTH testu

**Hypotéza:** Koncentrace kortizolu ve slinách odráží volnou frakci sérového kortizolu. Cílem naší práce bylo srovnání reprodukovatelnosti a spolehlivosti stanovení kortizolu ve slinách a v séru v rámci ACTH stimulačního testu.

**Soubor pacientů:** Námi vyšetřený soubor představovala skupina 84 jedinců s klinickým podezřením na možný hypokortikalismus (primární či sekundární), u kterých byl ke stanovení diagnózy indikován ACTH stimulační test. Průměrný věk v našem souboru činil 63,2 let, s rozmezím 24–89 let. V souboru převažovali muži (66 vs. 18 žen). Dle dosaženého maxima kortizolu v séru po stimulaci jsme vytvořili skupinu hypokortikálních jedinců ( $n = 8$ , průměrný věk 61,4 let, 6 mužů), u kterých maximální koncentrace kortizolu po stimulaci nepřesáhla 500 nmol/l a skupinu referenční ( $n = 76$ , průměrný věk 64 let, 60 mužů).

**Metodologie:** V rámci této práce jsme použili test s intravenózní aplikací 250 mcg tetracosactidu (Synacthen, Novartis). Odběr krve a slin byl proveden před aplikací stimulační látky a poté v odstupu 30 a 60 minut.

**Výsledky:** Medián sérového kortizolu v referenční skupině byl 445 v 0. minutě, 766 ve 30. min. a 902 nmol/l v 60. minutě. Ve skupině hypokortikálních byl medián sérového kortizolu 253 nmol/l v 0. minutě, 394 nmol/l ve 30. minutě a 453 nmol/l v 60. minutě. Ve slinách byly koncentrace kortizolu v referenční skupině 19,02; 40,02 a 62,1 nmol/l v 0., 30. a 60. minutě. Ve skupině hypokortikálních činily koncentrace kortizolu ve slinách 9,60; 14,08 a 13,28 nmol/l v 0., 30. a 60. minutě. Byla prokázána dobrá korelace mezi koncentracemi kortizolu ve slinách a v séru ( $p < 0,0001$ ).

**Souhrn:** Statistickou analýzou bylo zjištěno, že procento variability  $R^2$  (koeficient spolehlivosti pro lineární model) vyjadřující shodu mezi experimentálními hodnotami a predikcí pro opakované měření ANOVA byl signifikantně vyšší ( $p = 0,021$ ) pro sérový kortizol ( $R^2 = 93,4 \%$ ) ve srovnání s kortizolem ve slinách ( $R^2 = 89,3 \%$ ). Vyšší diskriminační síla sérového vs. slinného kortizolu svědčí pro vyšší spolehlivost stanovení sérového kortizolu při použití v ACTH testu ve srovnání se slinným kortizolem. Tento rozdíl, ač statisticky signifikantní, je z hlediska klinické praxe zanedbatelný.

Článek byl publikován v časopise *Physiological Research*. Kompletní znění článku je přiloženo v anglickém jazyce.

**Tab. č. 7:** Referenční meze pro kortizol ve slinách (v nomol/l), bazálně a po stimulaci 250 mcg tetarcosactidu (vyjádřeno jako 95% interval spolehlivosti)

0. min.	13,19 – 32,23
30. min.	27,9 – 61,13
60. min	43,09 – 89,09

# Serum Cortisol Seems To Be a More Appropriate Marker for Adrenocortical Reserve Evaluation in ACTH Test in Comparison to Salivary Cortisol

M. KOSÁK<sup>1</sup>, V. HÁNA<sup>1</sup>, M. HILL<sup>2</sup>, K. ŠIMŮNKOVÁ<sup>1,2</sup>, Z. LACINOVÁ<sup>1</sup>, M. KRŠEK<sup>1</sup>, J. MAREK<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Third Department of Medicine, General University Hospital and First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic, <sup>2</sup>Institute of Endocrinology, Prague, Czech Republic

Received July 12, 2013

Accepted November 1, 2013

On-line January 8, 2014

## Summary

Salivary cortisol reflects the free fraction of serum cortisol. Monitoring salivary cortisol may be a promising alternative method for assessing serum cortisol in some clinical situations. We aimed to compare the reliability of salivary vs. serum cortisol during ACTH test. 84 subjects (mean age 63.2; 24-89 years; n=66 males) suspected for adrenocortical insufficiency underwent an ACTH test. Patients were divided based on peak serum cortisol into hypocortical group with cortisol <500 nmol/l and to reference group cortisol >500 nmol/l. Median serum cortisol levels in reference group were 445, 766, and 902 nmol/l at 0, 30, and 60 minutes, respectively, and in hypocortical group were 256, 394, and 453 nmol/l. Median salivary cortisol levels were 19.02, 40.02, and 62.1 nmol/l in reference group, and 9.60, 14.08, and 13.28 nmol/l in hypocortical group. Obtained values showed good correlation between serum and salivary cortisol ( $p < 0.0001$ ). The percentage of explained variability  $R^2$  (coefficient of determination for linear model) representing a measure of agreement between experimental values and predictions for repeated measures ANOVA, was significantly higher ( $p = 0.021$ ) for serum cortisol ( $R^2 = 93.4\%$ ) when compared to the salivary cortisol ( $R^2 = 89.3\%$ ). A stronger discriminating power of serum versus salivary cortisol suggests that it seems to be slightly, but statistically significantly more appropriate marker of adrenocortical reserve in ACTH test.

## Key words

Hypocorticalism • ACTH test • Serum cortisol • Salivary cortisol

## Corresponding author

M. Kosák, Third Department of Medicine, General University Hospital and First Faculty of Medicine, Charles University, U nemocnice 1, 128 08 Prague 2, Czech Republic. E-mail: mikulas.kosak@gmail.com

## Introduction

The ACTH stimulation test and serum cortisol levels are well-established indicators used to assess adrenocortical reserve in patients suspected of having primary adrenal insufficiency, or hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis dysfunction. (Hurel *et al.* 1996, Agha *et al.* 2006). The ACTH test is broadly used for initial screening purposes and is relatively easy to perform. Different stimulation tests are available. The most important of these tests are the insulin tolerance test (ITT), metyrapone test, ACTH test and the CRH test. All of these tests have their limitations. Although ITT is still considered to be a “gold standard” for testing HPA axis function, its main contraindications are neurological and cardiovascular and it should also not be used in elderly patients. For these reasons the ITT has largely been replaced by the ACTH test in clinical practice in recent years.

A variety of conditions may alter serum cortisol levels and reduce the applicability of the HPA axis testing regardless of the stimulation test used. Cortisol binding globulin (CBG, transcortin) levels have been shown to affect total serum cortisol level and reduce its reliability

as a marker of adrenocortical function (Šimůnková *et al.* 2008, Perogamvros *et al.* 2010b). Besides inherited deficiencies, the most common reasons for changes in CBG levels are estrogen therapy (oral contraceptives or hormone replacement therapy) and pregnancy (Šimůnková *et al.* 2008, Perogamvros *et al.* 2010b).

Clinical situations, particularly critical illness such as sepsis, liver cirrhosis or nephrotic syndrome, may decrease synthesis and/or increase CBG clearance. In these cases, measuring total serum cortisol is an inappropriate method to assess cortisol deficiency or hyper-secretion (Hamrahian *et al.* 2004, Arafah 2006). As a result, there is a need to identify a more sensitive indicator to assess adrenocortical reserve in these situations.

To date, many articles have been published suggesting the superiority of cortisol free fraction assessment in these clinical conditions (Hamrahian *et al.* 2004, Šimůnková *et al.* 2008). Free fraction serum cortisol represents about 5 % of total cortisol (Limor *et al.* 2011). Measurement of free serum cortisol by equilibrium dialysis cannot be routinely used due to methodological limitations (technical demands and time). The free cortisol fraction can be estimated using a mathematical model based on serum cortisol levels (free cortisol index).

Measuring urinary free cortisol may be an alternative approach. This method is often used to diagnose cortisol hypersecretion conditions, but it is not suitable for assessing hypocorticalism. Salivary cortisol reflects the free portion of cortisol (Gozansky *et al.* 2005). Measurement of salivary, rather than serum, cortisol could prove advantageous, given that saliva samples are easy to collect, non-invasive and well tolerated by patients. Furthermore, the stressful event of collecting a blood sample is also avoided (Meeran *et al.* 1993). For this reason, the measurement of salivary cortisol has become a popular technique used in psychiatric and psychological research.

We have compared the variability of observed results of both analytes and evaluated their reliability using statistical methods.

## Subjects and Methods

### Subjects

84 subjects were analyzed in our study with mean age 63.2 (24-89 years, 66 men). The group consisted of patients with possible hypocorticalism due to

various clinical conditions. All patients underwent an ACTH test. The indications for the test are listed in the Table 1.

**Table 1.** Diagnoses and clinical conditions leading to indication of the ACTH test in patients involved in the study.

<b>Reference group</b>	
<b>Diagnosis</b>	<b>No. of patients</b>
<i>Traumatic brain injury</i>	76
<b>Hypocortical group</b>	
<b>Diagnosis</b>	<b>No. of patients</b>
<i>Bilateral lymphoma of the adrenal gland</i>	1
<i>Traumatic brain injury</i>	2
<i>Addison's disease due to autoimmune adrenalitis</i>	1
<i>Pituitary surgery</i>	4

Patients were divided into one of two groups based on peak serum cortisol concentrations during the ACTH test. A peak serum cortisol of more than 500 nmol/l was considered normal adrenocortical function. These patients formed the reference group (n=76, mean age 64 years, range 24-89 years, 60 men). Patients with a peak serum cortisol below 500 nmol/l were included in the hypocortical group (n=8, mean age 61.4 years, range 49-77 years, 6 men). Pregnant women, patients taking oral contraceptives, corticosteroids or any interfering medication, and those with co-morbidities that might alter cortisol binding globulin levels were excluded from the study.

The study protocol was approved by the Local Ethical Committee and all participants signed informed consents.

### Testing procedures

The test was performed in the morning hours (between 0800 and 0900) and patients were instructed not to smoke, eat, drink or brush their teeth 60 min before the test. At the beginning of the test, an intravenous cannula was inserted in the antecubital vein 30 min before the first sample was performed. Following an overnight fast, basal blood and saliva samples were obtained (time 0). Saliva samples were collected into Salivette tubes (Sarstedt, Nümbrecht, Germany). Patients were instructed



to drool into the collection tube. After the first sample of blood and saliva were collected, 250 µg of synthetic human β1-24 ACTH (Synacthen, Novartis, Basel, Switzerland) was administered intravenously. Saliva and blood samples were taken again, after 30 and 60 min following the same procedures.

#### Laboratory methods

Serum cortisol levels were measured by commercial RIA kit (Immunotech, Marseille, France). Sensitivity was 10 nmol/l. The intra- and inter-assay variability of all kits was less than 5.0 % and 10.0 %, respectively.

Salivary cortisol concentrations were determined by commercial competitive immunoenzymatic colorimetric method according to the manufacturer's instructions (DiaMetra, Milano, Italy). Sensitivity was 0.14 nmol/l. The intra- and inter-assay variability of all kits was less than 5.0 % and 10.0 %, respectively.

#### Statistical analysis

The data were evaluated using repeated measures ANOVA model consisting of subject factor, between-subject factor Status (hypocortical vs. reference group), within-subject factor Time (0, 30, and 60 min) and Status × Time interaction. Due to skewed data distribution and non-constant variance, the original data were transformed by a Box-Cox transformation to attain symmetry and homoscedasticity for ANOVA testing (Meloun *et al.* 2000). For a graphical demonstration, the

transformed means and 95 % confidence intervals were re-transformed into the original scale. The homogeneity of the transformed data was tested as described elsewhere (Meloun *et al.* 2004). Least significant difference multiple comparisons followed the ANOVA testing. Sensitivity, specificity and their confidence intervals were calculated with the Wilson score method as described elsewhere (Armitage and Berry 1994).

## Results

Simultaneously we assessed serum and salivary cortisol levels in patients with normal HPA axis function and those with hypocorticalism.

Serum cortisol results were expressed as medians (lower and upper quartiles). Reference group had median cortisol levels of 445 (372,558), 766 (677, 877) and 902 (771, 1060) nmol/l at 0, 30 and 60 minutes, respectively. Serum cortisol levels were in the hypocortical group: 256 (177, 290), 394 (336, 457) and 453 (401, 476) nmol/l at 0, 30 and 60 minutes, respectively.

Median salivary cortisol levels (lower – upper quartile) in reference group were 19.02 (15.73, 27.60), 40.02 (33.95, 52.99) and 62.1 (48.30, 75.35) nmol/l at 0, 30 and 60 minutes, respectively. Salivary cortisol levels were much lower in the hypocortical group: 9.60 (3.81, 17.72), 14.08 (8.80, 19.40) and 13.28 (11.79, 21.14) nmol/l at 0, 30 and 60 minutes (Table 2).

**Table 2.** The basal and ACTH stimulated serum and salivary cortisol levels (both in nmol/l) expressed as median with quartiles.

		0 min	Time 30 min	60 min
Serum	Reference	445 (372, 558)	766 (677, 877)	902 (771, 1060)
	Hypocortical	256 (177, 290)	394 (336, 457)	453 (401, 476)
Saliva	Reference	19.02 (15.73, 27.60)	40.02 (33.95, 52.99)	62.1 (48.30, 75.35)
	Hypocortical	9.60 (3.81, 17.72)	14.08 (8.80, 19.40)	13.28 (11.79, 21.14)

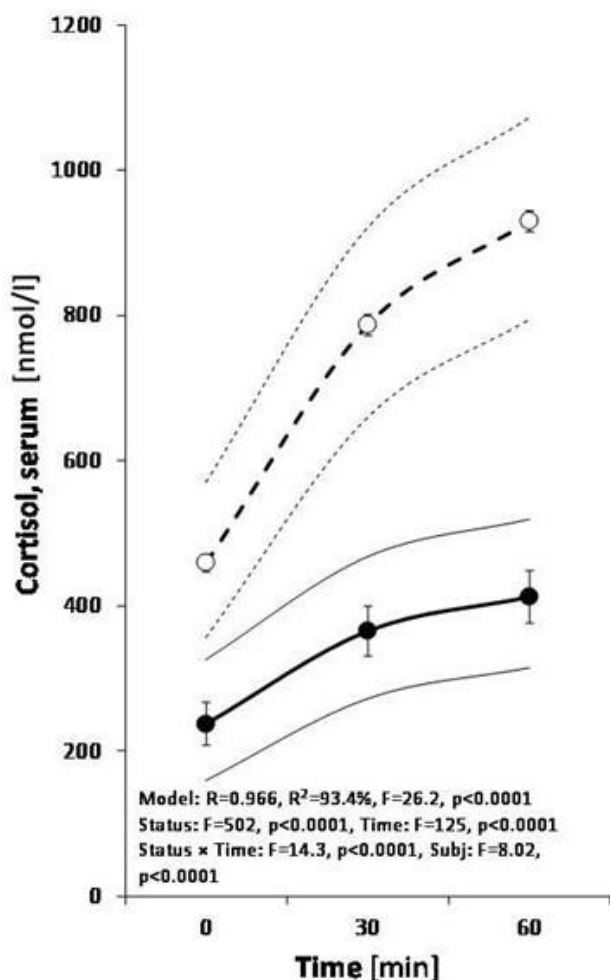
Peak serum cortisol was observed at 60 minute after the ACTH administration in all subjects, with the exception of one performed test. Similarly, peak values of cortisol were observed in saliva at 60 minute in all, but 9 subjects (6 of these tests were in the reference group and 3 tests in the hypocortical group). We found a significant correlation between serum and salivary

cortisol levels  $r=0.773$ ,  $n=272$ ,  $p<0.0001$ , within individuals (Fig. 1 and 2).

We attempted to estimate normal values based on the data observed in our cohort of individuals with normal response in serum cortisol. In the reference group were values of salivary cortisol as follows (expressed as intervals in which 95 % of subjects should occur):

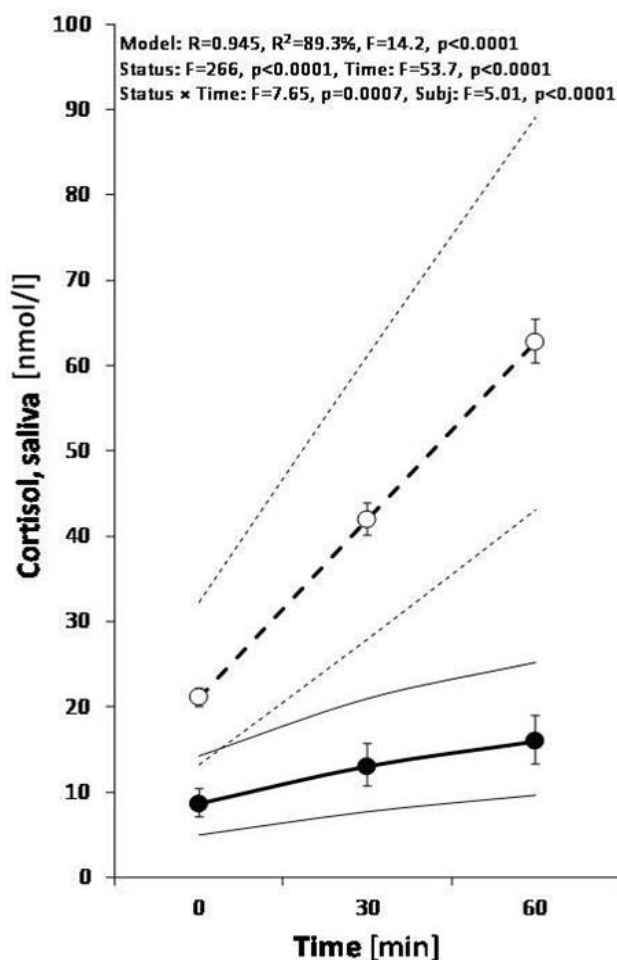
13.19-32.23 at minute 0, 27.9-61.13 at minute 30 and 43.09-89.09 nmol/l at minute 60. Calculated sensitivity and specificity of salivary cortisol was 0.5 and 0.895 for minute 0, 0.857 and 0.866 for minute 30 and 1 and 0.817 for minute 60, respectively.

The most important factor for serum cortisol was represented by the Status ( $F=473.4$ ), followed by Time ( $F=116.9$ ) and the Status  $\times$  Time interaction ( $F=19.4$ ) (indicating a different shape of the time profile for hypocortical patients and reference group) and the subject factor ( $F=8.35$ ) (separating inter-individual variability).



**Fig. 1.** Different profiles of serum cortisol for 250 ug ACTH test between hypocortical patients and reference group as evaluated using repeated measures ANOVA model (for details see Statistical analysis). The empty and full circles with error bars represent group means with their 95 % confidence intervals for reference and hypocortical group, respectively. The dashed and full thin curves symbolize the assessed 2.5 % and 97.5 % percentile for reference and hypocortical group, respectively. R,  $R^2$ , F, and p represent the correlation coefficient of the ANOVA model, percent of variability explained by the repeated measures ANOVA model, F-ratio, and level of statistical significance, respectively.

The percentage of explained variability  $R^2$  (coefficient of determination for linear model) representing a measure of agreement between experimental values and predictions for repeated measures ANOVA model, was significantly higher ( $p=0.021$ ) for serum cortisol ( $R^2=93.4\%$ ) when compared to the salivary cortisol ( $R^2=89.3\%$ ). In terms of statistical reliability, our findings provide evidence that serum cortisol is a slightly, but statistically significantly better parameter than salivary cortisol (expressed by the variability) for assessing adrenocortical reserve by ACTH test.



**Fig. 2.** Different profiles of salivary cortisol for 250 ug ACTH test between reference group and hypocortical patients as evaluated using repeated measures ANOVA model (for details see Statistical analysis). The drawings and symbols are the same as for Figure 1.

## Discussion

Salivary hormone levels have been used for diagnostic purposes since the early 1980s, specifically in the diagnosis of Cushing's syndrome (Riad-Fahmy *et al.*

1980). Late-night salivary cortisol levels have high sensitivity (92 %) and specificity (96 %) in diagnosis of Cushing's syndrome (Raff 2009). In contrast, there is decreased sensitivity and specificity of this indicator, when used to assess subclinical Cushing's syndrome (Masserini *et al.* 2009). As a result, there is still some controversy regarding the use of salivary hormone levels more broadly for diagnostic purposes.

The reliability of using salivary cortisol as a diagnostic tool for hypocorticalism is still controversial for a variety of reasons. Some authors have reported that during a stimulation test salivary cortisol is comparable and, in some cases, may be a more superior indicator than serum cortisol (Vining *et al.* 1983, Gozansky *et al.* 2005, Marcus-Perlman *et al.* 2006, Deutschbein *et al.* 2009). In contrast, our data provide evidence that serum cortisol is a more sensitive measure than salivary cortisol. Limor *et al.* (2011) evaluated reliability of salivary cortisol during a 1 µg ACTH test. Authors compared total serum cortisol to free serum cortisol and to salivary cortisol. They observed good reliability of salivary cortisol in patients with severe hypocorticalism but poor reliability in patients with borderline levels of serum cortisol after stimulation by ACTH. They concluded that salivary cortisol is not sensitive enough to diagnose partial hypocorticalism.

There are various methodologies available to assess adrenocortical reserve by ACTH test. These tests vary in terms of dosage and method of administration (intravenously or intramuscularly). Doses of 250 µg and 1 µg of ACTH are most commonly used, although there is no consensus in the literature regarding optimal dose. Some studies have provided evidence that 1 µg, rather than 250 µg, may be a superior. The higher dose induces supraphysiological stimulation, and consequently milder forms of hypocorticalism may be missed (Thaler and Blevins 1998, Tordjman *et al.* 2000). In contrast, other studies have shown that the ACTH test is reliable in both variants; both low (1 µg) and high/standard (250 µg) dose test (Dorin *et al.* 2003, Agha *et al.* 2006). Some authors suggest using doses from 10 µg to 25 µg of ACTH for the low dose variant of the test (Contreras *et al.* 2004).

In addition to controversy regarding the optimal ACTH dose, the reference or cut-off value for peak cortisol levels after stimulation, to assess adrenocortical insufficiency, also remains controversial. Some authors have established the cut-off limit of peak serum cortisol after the stimulation to be 500 nmol/l, others recommend 540 nmol/l and 600 nmol/l (Lindholm *et al.* 1978, Hurel

*et al.* 1996, Mehta *et al.* 2005). Some authors define partial adrenal insufficiency as borderline stimulation, with peak cortisol levels ranging from 510 to 550 nmol/l (Agha *et al.* 2006).

Differences in testing protocols create obvious difficulties in establishing a generally accepted level of salivary cortisol, which could be compared to serum cortisol cut-offs. Marcus-Perlman *et al.* (2006) reported that no hypocortical patients had salivary cortisol over 24.28 nmol/l at 30 minutes with ACTH testing. The authors found that 26 out of 28 control subjects had salivary cortisol levels over 27.6 nmol/l after 30 min. Contreras *et al.* (2004) established a normal response for salivary cortisol as 20 nmol/l at 30 minute. This value remained the same regardless of the dose (25 or 250 µg) used in the test. Limor *et al.* (2011) reported mean peak salivary cortisol as 55 nmol/l, with a range of 26.22-105.0 nmol/l defined as a normal response to 1 µg of ACTH.

In our study, the mean salivary cortisol for reference group was 40 nmol/l (upper – lower quartile 33-53) and 62 (upper – lower quartile 48-75) at 30 and 60 minute, respectively. The lowest observed peak for salivary cortisol was 33.06 nmol/l in the reference group (no patients in the reference group had a value below this level). The maximal peak of salivary cortisol was 27.54 nmol/l in the hypocortical group (no hypocortical patients had a value higher than this level). These findings agree with previously published data (Marcus-Perlman *et al.* 2006).

Measuring salivary cortisol has several methodological limitations (Raff 2009). Salivary cortisol reflects the free fraction of total serum cortisol but may be altered by 11β-hydroxysteroid dehydrogenase in the parotid gland (Perogamvros *et al.* 2010a). Perogamvros *et al.* reported better correlation between salivary cortisone and serum free cortisol levels compared to salivary cortisol and serum free cortisol level.

Contreras *et al.* (2004) and Marcus-Perlman *et al.* (2006) previously described that cortisol peaked at 30 min after administration of a low dose (1 µg) of ACTH. In our subjects, stimulated by 250 µg of ACTH, both serum and salivary cortisol peaked after 60 min. Also other authors observed delayed maximal cortisol peak when a standard high dose of ACTH (250 µg) was given (Deutschbein *et al.* 2009). The prolonged stimulation and half-life of plasma cortisol may explain the difference in results. Daidoh *et al.* (1995) has previously shown a time dependent response for maximal peak cortisol values depending on the ACTH dose.

### Limitations

A variety of factors may influence the accuracy of measuring cortisol levels in saliva. Hansen *et al.* (2008) reported altered levels of salivary cortisol in various material used in the swab chewed by patients. Cotton swabs showed significantly lower levels of cortisol than polyester swabs (reported difference was 62 %). Therefore, a simple drooling protocol was used to collect samples from study subjects.

Liquid chromatography tandem mass spectrometry (LCGMS) has previously been established as the “gold standard” methodology for measuring salivary cortisol as it eliminates cross reactivity (Perogamvros *et al.* 2010b, Deutschbein and Petersenn 2013). However, due to fiscal constraints and ease of methodology, we used a commercially available ELISA assay to measure salivary cortisol. With this method each laboratory establishes reference values for the immunoanalytical method (Inder *et al.* 2012).

### Comparison of the reliability saliva vs. serum cortisol

Deutschbein *et al.* (2009) compared sensitivity and specificity of salivary and serum cortisol in ACTH and ITT tests in patients suspected of secondary adrenocortical insufficiency. Sensitivity for serum cortisol was 67-79 % and specificity was 71-88 %, compared with 63-72 % sensitivity and 72-86 % specificity for salivary cortisol. Gozansky *et al.* (2005) reported an exponential relationship between salivary cortisol and serum total cortisol with stimulation of the HPA axis by CRH and exercise. The authors found a significantly larger relative change in salivary cortisol compared to serum cortisol in dynamic HPA axis testing. They concluded that salivary cortisol was a more accurate

measure than serum cortisol in stimulation tests. We are unable to confirm their conclusions with our findings, as we had significantly higher variability for serum cortisol assessed with ACTH testing ( $R^2=93.4\%$  for serum compared to  $R^2=89.3\%$  for saliva,  $p=0.021$ ). The aforementioned difference may be attributed to differences in study design. Gozansky *et al.* (2005) noted that patients on estrogen therapy were included in these studies. In contrast, we excluded these patients, as well as those suffering from diseases associated with altered CBG levels, from our study.

### Conclusions

In conclusion, our findings provide evidence that there is good correlation between serum and salivary cortisol in ACTH testing. We found slightly, but statistically significantly higher variability of serum cortisol assessment compared to salivary cortisol and so it seems that the serum cortisol is, according to our analysis, statistically more appropriate method of assessing adrenocortical reserve in the ACTH test. This difference is probably of less importance for clinical practice and, undoubtedly, measuring salivary cortisol is advantageous in specific situations of altered CBG level, when the free cortisol fraction needs to be evaluated.

### Conflict of Interest

There is no conflict of interest.

### Acknowledgements

The project was supported by the grant of Czech Ministry of Health NS NT 1127-7 and by the Research project of Charles University (Prvok, P25/LF1/2).

### References

- AGHA A, TOMLINSON JW, CLARK PM, HOLDER G, STEWART PM: The long-term predictive accuracy of the short synacthen (corticotropin) stimulation test for assessment of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *J Clin Endocrinol Metab* **91**: 43-47, 2006.
- ARAFAH BM: Hypothalamic pituitary adrenal function during critical illness: limitations of current assessment method. *J Clin Endocrinol Metab* **91**: 3725-3745, 2006.
- ARMITAGE P, BERRY G: *Statistical Methods in Medical Research*. 3rd ed., Blackwell, London, 1994, p. 131.
- CONTRERAS LN, ARREGGER AL, PERSI GC, GONZALEZ NS, CARDOSO EM: A new less-invasive and more informative low-dose ACTH test: salivary steroids in response to intramuscular corticotrophin. *Clin Endocrinol (Oxf)* **61**: 675-682, 2004.
- DAIDOH H, MORITA H, MUNE T, MURAYAMA M, HANAFUSA J, NI H, SHIBATA H, YASUDA K: Responses of plasma adrenocortical steroids to low dose ACTH in normal subjects. *Clin Endocrinol (Oxf)* **43**: 311-315, 1995.

- DEUTSCHBEIN T, UNGER N, MANN K, PETERSENN S: Diagnosis of secondary adrenal insufficiency in patients with hypothalamic-pituitary disease: comparison between serum and salivary cortisol during the high-dose short synacthen test. *Eur J Endocrinol* **160**: 9-16, 2009.
- DEUTSCHBEIN T, PETERSENN S: Screening for Cushing's syndrome: new immunoassays require adequate normative data. *Horm Metab Res* **45**: 118-123, 2013.
- DORIN RI, QUALLS CR, CRAPO LM: Diagnosis of adrenal insufficiency. *Ann Intern Med* **139**: 194-204, 2003.
- HAMRAHIAN AH, OSENI TS, ARAFAH BM: Measurements of serum free cortisol in critically ill patients. *N Engl J Med* **350**: 1629-1938, 2004.
- GOZANSKY WS, LYNN JS, LAUDENSLAGER ML, KOHRT WM: Salivary cortisol determined by enzyme immunoassay is preferable to serum total cortisol for assessment of dynamic hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity. *Clin Endocrinol (Oxf)* **63**: 336-341, 2005.
- GRÖSCHL M: Current status of salivary hormone analysis. *Clin Chem* **54**: 1759-1769, 2008.
- HANSEN AM, GARDE AH, PERSSON R: Measurement of salivary cortisol-effects of replacing polyester with cotton and switching antibody. *Scand J Clin Lab Invest* **68**: 826-829, 2008.
- HUREL SJ, THOMPSON CJ, WATSON MJ, HARRIS MM, BAYLIS PH, KENDALL-TAYLOR P: The short Synacthen and insulin stress tests in the assessment of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Clin Endocrinol (Oxf)* **44**: 141-146, 1996.
- INDER WJ, DIMESKI G, RUSSELL A: Measurement of salivary cortisol in 2012 – laboratory techniques and clinical indications. *Clin Endocrinol (Oxf)* **77**: 645-651, 2012.
- LIMOR R, TORDJMAN K, MARCUS Y, GREENMAN Y, OSHER E, SOFER Y, STERN N: Serum free cortisol as an ancillary tool in the interpretation of the low-dose 1- $\mu$ g ACTH test. *Clin Endocrinol (Oxf)* **75**: 294-300, 2011.
- LINDHOLM J, KEHLET H, BLICHERT-TOFT M, DINESEN B, RIISHEDE J: Reliability of the 30-minute ACTH test in assessing hypothalamic-pituitary-adrenal function. *J Clin Endocrinol Metab* **47**: 272-274, 1978.
- MARCUS-PERLMAN Y, TORDJMAN K, GREENMAN Y, LIMOR R, SHENKERMANN G, OSHER E, STERN N: Low-dose ACTH (1 microg) salivary test: a potential alternative to the classical blood test. *Clin Endocrinol (Oxf)* **64**: 215-218, 2006.
- MASSERINI B, MORELLI V, BERGAMASCHI S, ERMETICI F, ELLER-VAINICHER C, BARBIERI AM, MAFFINI MA, SCILLITANI A, AMBROSI B, BECK-PECCOZ P, CHIODINI I: The limited role of midnight salivary cortisol levels in the diagnosis of subclinical hypercortisolism in patients with adrenal incidentaloma. *Eur J Endocrinol* **160**: 87-92, 2009.
- MEERAN K, HATTERSLEY A, MOULD G, BLOOM SR: Venepuncture causes rapid rise in plasma ACTH. *Br J Clin Pract* **47**: 246-247, 1993.
- MEHTA A, HINDMARSH PC, DATTANI MT: An update on the biochemical diagnosis of congenital ACTH insufficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)* **62**: 307-314, 2005.
- MELOUN M, HILL M, MILITKY J, KUPKA K: Transformation in the PC-aided biochemical data analysis. *Clin Chem Lab Med* **38**: 553-559, 2000.
- MELOUN M, HILL M, MILITKY J, VRBIKOVA J, STANICKA S, SKRHA J: New methodology of influential point detection in regression model building for the prediction of metabolic clearance rate of glucose. *Clin Chem Lab Med* **42**: 311-322, 2004.
- PEROGAMVROS I, KEEVIL BG, RAY DW, TRAINER PJ: Salivary cortisone is a potential biomarker for serum free cortisol. *J Clin Endocrinol Metab* **95**: 4951-4958, 2010a.
- PEROGAMVROS I, OWEN LJ, KEEVIL BG, BRABANT G, TRAINER PJ: Measurement of salivary cortisol with liquid chromatography-tandem mass spectrometry in patients undergoing dynamic endocrine testing. *Clin Endocrinol (Oxf)* **72**: 17-21, 2010b.
- RAFF H: Utility of salivary cortisol measurements in Cushing's syndrome and adrenal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab* **94**: 3647-3655, 2009.
- RIAD-FAHMY D, READ GF, WALKER RF: Salivary steroid assays for screening endocrine function. *Postgrad Med J* **56** (Suppl 1): 75-78, 1980.

- 
- ŠIMŮNKOVÁ K, STÁRKA L, HILL M, KŘÍŽ L, HAMPL R, VONDRA K: Comparison of total and salivary cortisol in a low-dose ACTH (Synacthen) test: influence of three-month oral contraceptives administration to healthy women. *Physiol Res* **57** (Suppl 1): 193-199, 2008.
- THALER LM, BLEVINS LS JR: The low dose (1-microg) adrenocorticotropin stimulation test in the evaluation of patients with suspected central adrenal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab* **83**: 2726-2729, 1998.
- TORDJMAN K, JAFFE A, TROSTANETSKY Y, GREENMAN Y, LIMOR R, STERN N: Low-dose (1 microgram) adrenocorticotrophin (ACTH) stimulation as a screening test for impaired hypothalamo-pituitary-adrenal axis function: sensitivity, specificity and accuracy in comparison with the high-dose (250 microgram) test. *Clin Endocrinol (Oxf)* **52**: 633-640, 2000.
- VINING RF, MCGINLEY RA, MAKSVYTIS JJ, HO KY: Salivary cortisol: a better measure of adrenal cortical function than serum cortisol. *Ann Clin Biochem* **20**: 329-335, 1983.
-

## 9. Diskuze

Řada studií prokázala poměrně častý výskyt poruch hypofyzárních funkcí po traumatickém postižení mozku a subarachnoidálním krvácení. Cílem naší práce bylo zhodnotit funkce hypofýzy po ošetření chronického subdurálního hematomu a zjistit, zda a v jaké míře je chronický subdurální hematom spojen s poruchami hypofyzárních funkcí.

V námi vyšetřeném souboru pacientů po ošetření subdurálního hematomu jsme v průběhu ročního sledování po úrazu nezaznamenali žádnou významnou poruchu funkce thyreotropní a kortikotropní osy či poruchu sekrece ADH. Pozorovali jsme poruchy gonadotropní osy a poruchy sekrece růstového hormonu a to zejména v akutní fázi. Tyto poruchy se v průběhu dalšího sledování u části pacientů upravily.

Provedli jsme analýzu možné souvislosti s velikostí subdurálního hematomu či tíží neurologického deficitu a rozvojem hypopituitarismu, ale žádnou souvislost jsme nepozorovali.

V době přípravy našeho výzkumu a po dobu jeho realizace popisovala většina publikovaných prací (Agha et al., 2004 a; Schneider et al., 2007 a) výskyt poruch hypofyzárních funkcí spojených s TBI a SAK ve vyšším procentu, než jsme prokázali v našem souboru pacientů. Proto jsme naše výsledky po skončení našeho výzkumu analyzovali kriticky a nižší výskyt poruchy hypothalamo-hypofyzárních funkcí v našem souboru pacientů jsme připisovali patofyziologickým charakteristikám zvoleného typu úrazu (chronický subdurální hematom), u kterého jsme zvažovali méně závažné ovlivnění funkce hypothalamo-hypofyzární jednotky. Zjištěný nižší výskyt poruchy hypothalamo-hypofyzárních funkcí by mohl být podmíněn vyšším průměrným věkem a s tím spojenou atrofií mozku, což je pravděpodobně příčinou menšího tlaku, kterým působí chronický subdurální hematom na struktury mozku. Dalším vysvětlením by mohl být časový faktor. Chronický subdurální hematom se rozvíjí řadu dní až týdnů, během kterých se mohou uplatnit adaptační mechanismy (např. v případě vaskulárních příčin).

Nicméně naše pozorování nižšího výskytu hormonálních poruch ve srovnání s dříve uváděným relativně vysokým výskytem poruch hypofýzy po TBI a SAK jsou ve shodě s nejnovějšími literárními údaji (Kokshoorn et al., 2011; Kloze et al., 2013; Gardner et al., 2013). Ty, stejně jako naše práce, nepotvrzují dříve uváděný relativně vysoký výskyt endokrinních poruch po TBI či SAK.

Tyto diskrepance vedou k hledání odpovědi na otázku, co je příčinou rozdílu v uváděných frekvencích výskytu. Nejpravděpodobnějším vysvětlením je vliv několika faktorů. Velmi precizně provedené práce z poslední doby prokázaly vliv použitých dynamických testů, resp. nezbytnost retestování alternativním testem při zjištěném deficitu, provádění kontrolních testů v časovém odstupu od úrazu a dále problematika nedostupnosti norem pro hodnocení hormonálních hladin v určitých situacích. Jedná se zejména o normy pro koncentrace testosteronu zohledňující věk a normy pro GH zohledňující věk a BMI (Kokshoorn et al., 2011; Kloze et al., 2014).

Při hodnocení výsledků našeho pozorování jsme se rovněž potýkali s otázkou hodnocení funkce gonadotropní osy, neboť průměrný věk pacientů mužského pohlaví v našem souboru činil 68 let. Kromě poklesu aktivity osy se stoupajícím věkem je funkce gonadotropní osy ovlivněna řadou dalších faktorů, jako jsou např. komorbidit, obezita atd. Podobný problém představuje hodnocení sekrece GH, která se rovněž s věkem snižuje, a i zde se uplatňuje řada dalších faktorů (stejně jako u gonadotropní osy vliv komorbidit a obezity).

Naše práce tedy potvrdila, že chronický subdurální hematom je stejně jako ostatní typy TBI spojen s určitým rizikem ovlivnění funkce hypothalamo-hypofyzární jednotky a námi pozorované výsledky (frekvence výskytu poruch jednotlivých os, tendence k úpravě hormonálních poruch v průběhu delšího sledování) jsou v souladu s aktuálně publikovanými sděleními. K pacientům po chirurgickém ošetření chronického subdurálního hematomu by tak, podle našeho názoru, mělo být z hlediska potřeby endokrinologického vyšetření přistupováno stejně jako k pacientům po traumatickém poranění mozku.

Druhým tématem mé práce bylo srovnání paralelně stanovované koncentrace kortizolu ve slinách a v séru ve stimulačním ACTH testu a posouzení využitelnosti stanovení slinného kortizolu pro klinickou diagnostiku. Na souboru jedinců s hypokortikalismem a skupině referenčních jedinců jsme potvrdili dobrou korelaci mezi těmito dvěma metodami, což je v souladu s literárními údaji. Statistickou analýzou výsledků jsme dospěli k závěru, že stanovení sérového kortizolu zůstává pro vyšší variabilitu přesnější metodou pro diagnostiku hypokortikalismu pomocí ACTH testu, nicméně tento rozdíl není z klinického hlediska zásadní. Slinný kortizol lze spolehlivě použít pro dynamické testování HPA osy zejména ve specifických



situacích, jako je léčba estrogyeny (hormonální substituční terapie, hormonální antikoncepce). V těchto situacích je stanovení slinného kortizolu v dynamickém testu jedinou možnou metodou v diagnostice hypokortikalismu. Stanovení sérového kortizolu nelze pro zkrácení při změnách koncentrací CBG použít.

Stále nevyřešená zůstává otázka optimální dávky stimulační látky (tetracosactidu). Dostupné práce věnované této problematice nepřinášejí jednoznačné závěry. V původní podobě je v testu používána dávka 250 mcg, u které ale u některých autorů panuje obava ze suprafyziologické stimulace, která by mohla vést k nerozpoznání mírnějších (parciálních) případů hypokortikalismu (Thaler et Blevins, 1998). Jiní autoři uvádějí spolehlivost obou variant testu (Dorin et al., 2003, 2006). Existují verze testu s dávkou 10 a 25 mcg tetracosactidu (Contreras et al., 2004).

Díky relativně velkému počtu provedených testů se nám podařilo určit normální hodnoty koncentrace kortizolu ve slinách po stimulaci ACTH, což je základní podmínka pro zavedení této metody do klinické praxe. Námi zjištěné referenční meze jsou ve shodě s daty jiných autorů (Marcus-Perlman et al., 2006; Contreras et al., 2004). Lze tak konstatovat, že výsledky naší práce přispěly k zavedení této metody do klinické praxe v rámci Všeobecné fakultní nemocnice v Praze.

## 10. Závěry

### 10.1. Závěry 1. části práce

Na otázky, jejichž zodpovězení bylo cílem naší práce věnované hodnocení hypofyzárních funkcí u pacientů po operaci chronického subdurálního hematomu, lze odpovědět takto:

*1. Je chronický subdurální hematom spojen se vznikem poruch hypothalamo-hypofyzárních funkcí?*

Chronický subdurální hematom je spojen, stejně jako ostatní typy TBI, s určitým rizikem ovlivnění funkce hypothalamo-hypofyzární jednotky. V námi vyšetřeném souboru pacientů po ošetření subdurálního hematomu jsme v průběhu ročního sledování po úrazu nezaznamenali žádnou klinicky významnou poruchu funkce thyreotropní a kortikotropní osy či poruchu sekrece ADH. Zjištěné dva případy deficitu ACTH byly mírného stupně a pouze přechodné s úpravou při kontrolním vyšetření.

V akutní fázi jsme pozorovali poruchy gonadotropní osy u 9 pacientů (25,7 %) a poruchy sekrece růstového hormonu u 23 pacientů (46,9 %).

*2. Přetrvávají hormonální poruchy zjištěné v akutní fázi při dlouhodobém sledování?*

S odstupem 12 měsíců po chirurgickém odstranění chronického subdurálního hematomu přetrvával centrální hypogonadismus u 3 pacientů (12 %) a deficit růstového hormonu u 15 pacientů (46,9 %).

*3. Dochází ke vzniku nových deficitů v odstupu od úrazu?*

V průběhu ročního sledování jsme nezaznamenali rozvoj nového klinicky významného hormonálního deficitu.

*4. Mají zjištěné hormonální poruchy klinické důsledky ve formě potřeby substituce zjištěných deficitů?*

Zjištěné hormonální poruchy byly u části pacientů přechodné s tendencí k úpravě a u části jedinců byly klinicky nevýznamné. Hormonální substituce, s jednou výjimkou přechodné substituce deficitu GH, nezbytná nebyla.

*5. Existují faktory, které zvyšují riziko rozvoje hypopituitarismu?*

Žádné rizikové faktory, které by predikovaly vyšší pravděpodobnost rozvoje poruchy hypothalamo-hypofyzární jednotky po chronickém subdurálním hematomu, v námi vyšetřeném souboru jsme nezjistili.

## 10.2. Závěry 2. části práce

Na otázky, jejichž zodpovězení bylo cílem naší práce věnované srovnání sérového a slinného kortizolu při hodnocení adrenokortikální rezervy pomocí ACTH testu, lze odpovědět takto:

### *1. Korelují koncentrace kortizolu v séru a ve slinách po stimulaci ACTH?*

Koncentrace kortizolu v séru a ve slinách po stimulaci ACTH korelují.

### *2. Jaká je využitelnost stanovení slinného kortizolu v ACTH testu pro klinickou praxi?*

Stanovení kortizolu ve slinách lze spolehlivě použít pro dynamické testování HPA osy zejména ve specifických situacích, jako je léčba estrogyeny (hormonální substituční terapie, hormonální antikoncepce) či kritických stavech (např. sepse, jaterní či renální selhání).

### *3. Která z metod je dle statistické analýzy v dané situaci přesnější?*

Statistickou analýzou byla zjištěna vyšší diskriminační síla pro stanovení sérového vs. slinného kortizolu. Tento fakt svědčí pro vyšší spolehlivost stanovení sérového kortizolu při použití v ACTH testu ve srovnání se slinným kortizolem. Nicméně tento rozdíl, ač statisticky signifikantní nebrání využití slinného kortizolu ve specifických situacích.

### *4. Stanovit referenční hodnoty koncentrace kortizolu ve slinách za bazálních podmínek a po stimulaci ACTH.*

Referenční meze jsme stanovili.

## 11. Summary

Many studies confirmed relatively high prevalence of hypothalamo-pituitary impairment following traumatic brain injury and subarachnoid hemorrhage. The aim of our work was to evaluate pituitary function in patients who suffered chronic subdural haematoma and answer the question whether, and if yes, how often is chronic subdural haematoma accompanied with hypopituitarism.

In our cohort of patients no serious impairment of hypothalamo-pituitary-adrenal axis, thyrotrophic axis nor secretion of ADH was proved. Gonadotrophic axis and GH secretion impairment was present among our patients, especially during acute phase. Gonadotrophic axis was impaired in 9 (25,7 %) patients, GH secretion was impaired in 23 (46,9 %) patients. These impairments tended to normalize during the follow up. Gonadotrophic axis was impaired in 3 (12 %) patients and GH secretion was impaired in 15 (46,9 %) one year after the surgery. During the preparation of our project and during its course in the majority of published papers high incidence of pituitary function impairment was observed. Therefore during the evaluation of data obtained from our group of patients we attempted to analyse possible reasons for mentioned discrepancy, considering that maybe the chosen type of trauma (chronic subdural haematoma) and pathophysiological characteristics of chronic subdural haematoma could be the explanation. Observed discrepancy between prevalence of hypopituitarism in acute vs. chronic phase was analysed as well.

At the time of preparing for publishing our result several authors came out with observation similar to our result (Kokshoorn et al., 2011). This has raised the question what is the reason for that difference. Most probably several factors are involved – type of stimulation tests, necessity of confirmatory test performance if the screening test was positive, follow up and retesting in delay. Other factors that have influence on the results is the lack of reference values for the tested population e.g. reference values for testosterone in men of advanced age and reference values for evaluation of GH secretion with respect to the age and BMI.

Our work has confirmed that subdural haematoma, as well as in other types of traumatic brain injury, is associated with certain risk of impairment of hypothalamo-pituitary unit functions and our observation is consistent with recently published data.

The second part of my work was to compare simultaneously measured concentrations of cortisol in saliva and in serum during the ACTH stimulation test. In

a group of patients with hypocorticalism and a reference group we have confirmed good correlation between these two methods. These findings are in accordance with other published works. Statistical analysis has shown that serum cortisol measurement has slightly better reliability due to higher variability of the results. This difference, though statistical significant, has negligible impact on clinical applicability. Thanks to relatively high number of preformed tests we established reference values for normal and pathologic peak values of salivary cortisol concentrations after the stimulation with ACTH which is a basic condition for implementation of this method in a clinical routine practice. We can conclude that this works helped to implement salivary cortisol measurement into clinical practice in the General University Hospital in Prague.

## 12. Vlastní publikace autora

Publikace s IF, které jsou podkladem disertační práce

**Kosák M**, Hána V, Hill M, Šimůnková K, Lacinová Z, Kršek M, Marek J. Serum cortisol seems to be a more appropriate marker for adrenocortical reserve evaluation in ACTH test in comparison to salivary cortisol.  
Physiol. Res. 63: 229-236, 2014. IF 1,487

Hána V, **Kosák M**, Masopust V, Netuka D, Lacinová Z, Kršek M, Marek J, Pecen L. Hypothalamo-pituitary dysfunction in patients with chronic subdural hematoma.  
Physiol. Res.61:161-167, 2012. IF 1,531

**Kosák M**, Hána V. Hypothalamo-hypofyzární dysfunkce po kraniocerebrálních traumatech a po spontánním subarachnoidálním krvácení  
Cesk. Slov. Neurol. N. 74/107: 286-291, 2011. IF 0,279

Aktivní účast na odborných akcích – mezinárodní:

- 12th European Congress of Endocrinology 2010 (ECE) poster: Pituitary functions in patients with chronic subdural hematoma. Praha, Česká republika, IV/2010
- ENDO 2010: The 92nd Annual Meeting & Expo, poster: Chronic Subdural Hematoma as a Cause of Pituitary Dysfunction. San Diego, USA, VI/2010.
- ENDO 2011: The 93rd Annual Meeting & Expo, poster: Hypothalamo – pituitary dysfunction in patients with chronic subdural hematoma. Boston, USA, VI/2011.
- 14th European Congress of Endocrinology 2012 (ECE/ICE) poster: Hypothalamo-pituitary dysfunction in patients with chronic subdural hematoma. Florencie, Itálie, V/2012.
- 15th European Congress of Endocrinology 2013 (ECE) poster: Reliability of serum versus salivary cortisol in ACTH test, Kodaň, Dánsko, IV/2013

Aktivní účast na odborných akcích – Česká republika:

- XXXII. Česko-Slovenské endokrinologické dny, Český Krumlov (2009) – poster: Posttraumatický hypopituitarismus
- XXXIV. Česko-Slovenské endokrinologické dny, Brno (2011) – přednáška: Poruchy hypofyzárních funkcí u pacientů s chronickým subdurálním hematomem.
- XXXVI. Česko-Slovenské endokrinologické dny, Plzeň (2013) - přednáška: Využití stanovení kortizolu ve slinách v diagnostice hypokortikalismu.

## 13. Použitá literatura

- Acerini CL, Tasker RC, Bellone S, Bona G, Thompson CJ, Savage MO.** Hypopituitarism in childhood and adolescence following traumatic brain injury: the case for prospective endocrine investigation. *Eur. J. Endocrinol.*, 2006. 155(5): 663-669.
- Agha A, Rogers B, Mylotte D, Taleb F, Tormey W, Phillips J, Thompson CJ.** Neuroendocrine dysfunction in the acute phase of traumatic brain injury. *Clin. Endocrinol.*, 2004. 60(5): 584-591. (a)
- Agha A, Rogers B, Sherlock M, O'Kelly P, Tormey W, Phillips J, Thompson CJ.** Anterior pituitary dysfunction in survivors of traumatic brain injury. *J. Clin. Endocrinol Metab.*, 2004. 89(10): 4929-4936. (b)
- Agha A, Thornton E, O'Kelly P, Tormey W, Phillips J, Thompson CJ.** Posterior pituitary dysfunction after traumatic brain injury. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2004. 89(12): 5987-5992. (c)
- Aimaretti G, Baffoni C, Bellone S, Di Vito L, Corneli G, Arvat E, Benso L, Camanni F, Ghigo E.** Retesting young adults with childhood-onset growth hormone (GH) deficiency with GH-releasing-hormone-plus-arginine test. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000. 85(10): 3693-3699.
- Aimaretti G, Ambrosio MR, Di Somma C, Gasperi M, Cannavò S, Scaroni C et al.** Residual pituitary function after brain injury-induced hypopituitarism: a prospective 12-month study. *J. Clin Endocrinol. Metab.*, 2005. 90(11): 6085-6092.
- Alexopoulou O, Beguin C, De Nayer P, Maiter D.** Clinical and hormonal characteristics of central hypothyroidism at diagnosis and during follow-up in adult patients. *Eur. J. Endocrinol.*, 2004. 150(1): 1-8.
- Annane D, Maxime V, Ibrahim F, Alvarez JC, Abe E, Boudou P.** Diagnosis of adrenal insufficiency in severe sepsis and septic shock. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2006. 174(12): 1319-1326.
- Arafah BM.** Hypothalamic pituitary adrenal function during critical illness: limitations of current assessment methods. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2006. 91(10): 3725-3745.
- Arem R, Ghusn H, Ellerhorst J, Comstock JP.** Effect of decreased plasma low-density lipoprotein levels on adrenal and testicular function in man. *Clin Biochem.*, 1997. 30(5): 419-424.
- Bachmann G, Bancroft J, Braunstein G, Burger H, Davis S, Dennerstein L, Goldstein I, Guay A, Leiblum S, Lobo R, Notelovitz M, Rosen R, Sarrel P, Sherwin B, Simon J, Simpson E, Shifren J, Spark R, Traish A.** Female androgen insufficiency: the Princeton consensus statement on definition, classification, and assessment. *Fertil. Steril.*, 2002. 77(4): 660-665.

**Badri S, Chen J, Barber J, Temkin NR, Dikmen SS, Chesnut RM, Deem S, Yanez ND, Treggiari MM.** Mortality and long-term functional outcome associated with intracranial pressure after traumatic brain injury. *Intensive Care Med.*, 2012. 38(11): 1800-1809.

**Baguley IJ, Cooper J, Felmingham K.** Aggressive behavior following traumatic brain injury: how common is common?. *J. Head Trauma Rehabil.*, 2006. 21(1): 45-56.

**Bates AS, Van't Hoff W, Jones PJ, Clayton RN.** The effect of hypopituitarism on life expectancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996. 81(3): 1169-1172.

**Baxter D, Sharp DJ, Feeney C, Papadopoulou D, Ham TE, Jilka S, Hellyer PJ, Patel MC, Bennett AN, Mistlin A, McGilloway E, Midwinter M, Goldstone AP.** Pituitary dysfunction after blast traumatic brain injury: The UK BIOSAP study. *Ann. Neurol.*, 2013. 74(4): 527-536.

**Becker RM, Daniel RK.** Increased antidiuretic hormone production after trauma to the craniofacial complex. *J. Trauma.*, 1973. 13(2): 112-115.

**Bellone S, Einaudi S, Caputo M, Prodam F, Busti A, Belcastro S, Parlamento S, Zavattaro M, Verna F, Bondone C, Tessaris D, Gasco V, Bona G, Aimaretti G.** Measurement of height velocity is an useful marker for monitoring pituitary function in patients who had traumatic brain injury. *Pituitary*, 2013. 16(4): 499-506.

**Ben-Shlomo A, Melmed S.** Pituitary somatostatin receptor signaling. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2010. 21(3): 123-133.

**Benvenga S, Campenní A, Ruggeri RM, Trimarchi F.** Clinical review 113: Hypopituitarism secondary to head trauma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000. 85(4): 1353-1361.

**Berg C, Meinel T, Lahner H, Yuece A, Mann K, Petersenn S.** Diagnostic utility of the glucagon stimulation test in comparison to the insulin tolerance test in patients following pituitary surgery. *Eur. J. Endocrinol.*, 2010. 162(3): 477-482.

**Bondanelli M, De Marinis L, Ambrosio MR, Monesi M, Valle D, Zatelli MC, Fusco A, Bianchi A, Farneti M, degli Uberti EC.** Occurrence of pituitary dysfunction following traumatic brain injury. *J. Neurotrauma*, 2004. 21(6): 685-696.

**Bushnik T, Englander J, Duong T.** Medical and social issues related to posttraumatic seizures in persons with traumatic brain injury. *J. Head Trauma Rehabil.*, 2004. 19(4): 296-304.

**Cardoso E, Persi G, González N, Tumilasci O, Arregger A, Burgos M, Rodríguez V, Molina A, Contreras LN.** Assessment of adrenal function by measurement of salivary steroids in response to corticotrophin in patients infected with human immunodeficiency virus. *Steroids*, 2007. 72(4): 328-334.



**Carroll PV, Christ ER, Bengtsson BA, Carlsson L, Christiansen JS, Clemmons D, Hintz R, Ho K, Laron Z, Sizonenko P, Sönksen PH, Tanaka T, Thorne M.** Growth hormone deficiency in adulthood and the effects of growth hormone replacement: a review. Growth Hormone Research Society Scientific Committee. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998. 83(2): 382-395.

**Ceballos R.** Pituitary changes in head trauma (analysis of 102 consecutive cases of head injury). *Ala. J. Med. Sci.*, 1966. 3(2): 185-198.

**Cernak I, Savic VJ, Lazarov A, Joksimovic M, Markovic S.** Neuroendocrine responses following graded traumatic brain injury in male adults. *Brain Inj.*, 1999. 13(12):1005-1015.

**Chiamolera MI, Wondisford FE.** Minireview: Thyrotropin-releasing hormone and the thyroid hormone feedback mechanism. *Endocrinology*, 2009. 150(3): 1091-1096.

**Cifu DX, Kaelin DL, Wall BE.** Deep venous thrombosis: incidence on admission to a brain injury rehabilitation program. *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, 1996. 77(11): 1182-1185.

**Clark BJ, Stocco DM.** StAR-A tissue specific acute mediator of steroidogenesis. *Trends Endocrinol. Metab.*, 1996. 7(7): 227-233.

**Clark PM, Neylon I, Raggatt PR, Sheppard MC, Stewart PM.** Defining the normal cortisol response to the short Synacthen test: implications for the investigation of hypothalamic-pituitary disorders. *Clin. Endocrinol.*, 1998. 49(3): 287-292.

**Contreras LN, Arregger AL, Persi GG, Gonzalez NS, Cardoso EM.** A new less-invasive and more informative low-dose ACTH test: salivary steroids in response to intramuscular corticotrophin. *Clin. Endocrinol.*, 2004. 61(6): 675-682.

**Cooke BA.** Signal transduction involving cyclic AMP-dependent and cyclic AMP-independent mechanisms in the control of steroidogenesis. *Mol. Cell Endocrinol.*, 1999. 151(1-2): 25-35.

**Corrigan JD.** Development of a scale for assessment of agitation following traumatic brain injury. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.*, 1989. 11(2): 261-277.

**Corrigan JD, Selassie AW, Orman JA.** The epidemiology of traumatic brain injury. *J. Head Trauma Rehabil.*, 2010. 25(3): 72-80.

**Crown A, Clifton DK, Steiner RA.** Neuropeptide signaling in the integration of metabolism and reproduction. *Neuroendocrinology*, 2007. 86(3): 175-182.

**Cuthbert JP, Corrigan JD, Harrison-Felix C, Coronado V, Dijkers MP, Heinemann AW, Whiteneck GG.** Factors that predict acute hospitalization discharge disposition for adults with moderate to severe traumatic brain injury. *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, 2011. 92(5): 721-730.

**Cyran E.** Hypophysenschädigung durch Schadelbasisfraktur. Dtsch Med Wochenschr., 1918. 44: 1261-1270.

**De Marinis L, Fusco A, Bianchi A, Aimaretti G, Ambrosio MR, Scaroni C et al..** Hypopituitarism findings in patients with primary brain tumors 1 year after neurosurgical treatment: preliminary report. J. Endocrinol. Invest., 2006. 29(6): 516-522.

**Deutschbein T, Unger N, Mann K, Petersenn S.** Diagnosis of secondary adrenal insufficiency in patients with hypothalamic-pituitary disease: comparison between serum and salivary cortisol during the high-dose short synacthen test. Eur. J. Endocrinol., 2009. 160(1): 9-16.

**Dikmen SS, Bombardier CH, Machamer JE, Fann JR, Temkin NR.** Natural history of depression in traumatic brain injury. Arch. Phys. Med. Rehabil., 2004. 85(9): 1457-1464.

**Dorin RI, Qualls CR, Crapo LM.** Diagnosis of adrenal insufficiency. Ann. Intern. Med., 2003. 139(3): 194-204.

**Durand D, Pampillo M, Caruso C, Lasaga M.** Role of metabotropic glutamate receptors in the control of neuroendocrine function. Neuropharmacology., 2008. 55(4): 577-583.

**Dyess EM, Segerson TP, Liposits Z, Paull WK, Kaplan MM, Wu P, Jackson IM, Lechan RM.** Triiodothyronine exerts direct cell-specific regulation of thyrotropin-releasing hormone gene expression in the hypothalamic paraventricular nucleus. Endocrinology, 1988. 123(5): 2291-2297.

**Eaton MJ, Cheung S, Moore KE, Lookingland KJ.** Dopamine receptor-mediated regulation of corticotropin-releasing hormone neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus. Brain Res., 1996. 738(1): 60-66.

**Faust JR, Goldstein JL, Brown MS** Receptor-mediated uptake of low density lipoprotein and utilization of its cholesterol for steroid synthesis in cultured mouse adrenal cells. J. Biol. Chem., 1977. 252(14): 4861-4871.

**Fekete C, Lechan RM.** Negative feedback regulation of hypophysiotropic thyrotropin-releasing hormone (TRH) synthesizing neurons: role of neuronal afferents and type 2 deiodinase. Front. Neuroendocrinol.. 2007(2-23). 28: 97-114.

**Fenske W, Quinkler M, Lorenz D, Zopf K, Haagen U, Papassotiriou J, Pfeiffer AF, Fassnacht M, Störk S, Allolio B.** Copeptin in the differential diagnosis of the polydipsia-polyuria syndrome--revisiting the direct and indirect water deprivation tests. J. Clin. Endocrinol Metab., 2011. 96(5): 1506-1515.

**Fleischer AS, Rudman DR, Payne NS, Tindall GT.** Hypothalamic hypothyroidism and hypogonadism in prolonged traumatic coma. J. Neurosurg., 1978. 49(5): 650-657.

**Fleck SK, Wallaschofski H, Rosenstengel C, Matthes M, Kohlmann T, Nauck M, Schroeder HW, Spielhagen C.** Prevalence of hypopituitarism after intracranial operations not directly associated with the pituitary gland. *BMC Endocr. Disord.*, 2013. 13(1): 51.

**Flint AC, Manley GT, Gean AD, Hemphill JC 3rd, Rosenthal G.** Post-operative expansion of hemorrhagic contusions after unilateral decompressive hemicraniectomy in severe traumatic brain injury. *J. Neurotrauma.*, 2008. 25(5): 503-512.

**Foelholm R, Waltimo O.** Epidemiology of chronic subdural haematoma. *Acta Neurochir.*, 1975. 32(3-4): 247-250.

**Freeman ME, Kanyicska B, Lerant A, Nagy G.** Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Physiol. Rev.*, 2000. 80(4):1523-1631.

**Frohman LA, Kineman RD.** Growth hormone-releasing hormone and pituitary development, hyperplasia and tumorigenesis. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2002. 13(7): 299-303.

**Fujisawa I.** Magnetic resonance imaging of the hypothalamic-neurohypophyseal system. *J. Neuroendocrinol.*, 2004. 16(4): 297-302.

**Ganong WF.**, Review of Medical Physiology, 16. vydání, Appleton & Lange, 1993.

**Gardner CJ, Javadpour M, Stoneley C, Purthuran M, Biswas S, Daousi C, MacFarlane IA, Cuthbertson DJ.** Low prevalence of hypopituitarism after subarachnoid haemorrhage using confirmatory testing and with BMI-specific GH cut-off levels. *Eur. J. Endocrinol.*, 2013. 168(4): 473-481.

**Ghigo E, Aimaretti G, Gianotti L, Bellone J, Arvat E, Camanni F.** New approach to the diagnosis of growth hormone deficiency in adults. *Eur. J. Endocrinol.*, 1996. 134(3): 352-356.

**Gold PW, Loriaux DL, Roy A, Kling MA, Calabrese JR, Kellner CH, Nieman LK, Post RM, Pickar D, Gallucci W, et al.** Responses to corticotropin-releasing hormone in the hypercortisolism of depression and Cushing's disease. Pathophysiologic and diagnostic implications. *N. Engl. J. Med.*, 1986. 314: 1329-1335.

**Hamrahian AH, Oseni TS, Arafah BM.** Measurements of serum free cortisol in critically ill patients. *N. Engl. J. Med.*, 2004. 350(16): 1629-1638.

**Hammond GL.** Molecular properties of corticosteroid binding globulin and the sex-steroid binding proteins. *Endocr. Rev.*, 1990. 11(1): 65-79.

**HAMPL R, Foretová L, Šulcová J, Stárka L.** Daily profiles of salivary cortisol in Hydrocortisone treated children with congenital adrenal hyperplasia. *Europ. J. Pediatr.*, 1990. 149(4): 232-234.

**Hannon MJ, Crowley RK, Behan LA, O'Sullivan EP, O'Brien MM, Sherlock M, Rawluk D, O'Dwyer R, Tormey W, Thompson CJ.** Acute glucocorticoid deficiency and diabetes insipidus are common after acute traumatic brain injury and predict mortality. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2013. 98(8): 3229-3237.

**Harris GW.** Electrical stimulation of the hypothalamus and the mechanism of neural control of the adenohypophysis. *J. Physiol.*, 1948. 107(4): 418-429.

**Harrison-Felix C, Whiteneck G, Devivo MJ, Hammond FM, Jha A.** Causes of death following 1 year postinjury among individuals with traumatic brain injury. *J. Head Trauma. Rehabil.*, 2006. 21(1): 22-33.

**Hartoft-Nielsen M.L., Lange M, Rasmussen AK, Scherer S, Zimmermann-Belsing T, Feldt-Rasmussen U.** Thyrotropin-releasing hormone stimulation test in patients with pituitary pathology. *Horm. Res.*, 2004. 61(2): 53-57.

**Hägg E, Asplund K, Lithner F.** Value of basal plasma cortisol assays in the assessment of pituitary-adrenal insufficiency. *Clin. Endocrinol.*, 1987. 26(2): 221-226.

**Heather NL, Jefferies C, Hofman PL, Derraik JG, Brennan C, Kelly P, Hamill JK, Jones RG, Rowe DL, Cutfield WS.** Permanent hypopituitarism is rare after structural traumatic brain injury in early childhood. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012. 97(2): 599-604.

**Herrmann BL, Rehder J, Kahlke S, Wiedemayer H, Doerfler A, Ischebeck W, Laumer R, Forsting M, Stolke D, Mann K.** Hypopituitarism following severe traumatic brain injury. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.*, 2006. 114(6): 316-321.

**Hiler M, Czosnyka M, Hutchinson P, et al.** Predictive value of initial computerized tomography scan, intracranial pressure, and state of autoregulation in patients with traumatic brain injury. *J. Neurosurg.*, 2006. 104(5): 731-737.

**Hiramatsu R.** Direct assay of cortisol in human saliva by solid phase radioimmunoassay and its clinical applications. *Clin. Chim. Acta*, 1981. 117(2): 239-249.

**Ho KK.** Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of adults with GH deficiency II: a statement of the GH Research Society in association with the European Society for Pediatric Endocrinology, Lawson Wilkins Society, European Society of Endocrinology, Japan Endocrine Society, and Endocrine Society of Australia. *Eur. J. Endocrinol.*, 2007. 157(6): 695-700.

**Inder WJ, Hunt PJ.** Glucocorticoid replacement in pituitary surgery: guidelines for perioperative assessment and management. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002. 87(6): 2745-2750.

**Isidori AM, Giannetta E, Lenzi A.** Male hypogonadism. *Pituitary.*, 2008. 11(2): 171-180.

**Jennett B, Bond M.** Assessment of outcome after severe brain damage. *Lancet.*, 1975. 1(7905): 480-484.

**Jorge RE, Starkstein SE.** Pathophysiologic aspects of major depression following traumatic brain injury. *J. Head. Trauma Rehabil.*, 2005. 20(6): 475-487.

**Jovanovic V, Pekic S, Stojanovic M, Tasic G, Djurovic B, Soldatovic I, Doknic M, Miljic D, Djurovic M, Medic-Stojanoska M, Popovic V.** Neuroendocrine dysfunction in patients recovering from subarachnoid hemorrhage. *Hormones*, 2010. 9(3): 235-244.

**Kalvach Z.** Geriatrické syndromy a geriatrický pacient. Vyd. 1. Praha: Grada, 2008.

**Kanat A, Kayaci S, Yazar U, Kazdal H, Terzi Y.** Chronic subdural hematoma in adults: why does it occur more often in males than females? Influence of patient's sexual gender on occurrence. *J. Neurosurg. Sci*, 2010. 54(3): 99-103.

**Karaca Z, Lale A, Tanriverdi F, Kula M, Unluhizarci K, Kelestimur F.** The comparison of low and standard dose ACTH and glucagon stimulation tests in the evaluation of hypothalamo-pituitary-adrenal axis in healthy adults. *Pituitary*, 2011. 14(2): 134-140, 2011.

**Karaca Z, Tanriverdi F, Dagli AT, Selcuklu A, Casanueva FF, Unluhizarci K, Kelestimur F.** Three years prospective investigation of pituitary functions following subarachnoid haemorrhage. *Pituitary*, 2013. 16(1): 76-82.

**Kaufman HH, Timberlake G, Voelker J, Pait TG.** Medical complications of head injury. *Med. Clin. North Am.*, 1993. 77(1): 43-60.

**Kaulfers AM, Backeljauw PF, Reifschneider K, Blum S, Michaud L, Weiss M, Rose SR.** Endocrine dysfunction following traumatic brain injury in children. *J. Pediatr.*, 2010. 157(6): 894-899.

**Keith RA, Granger CV, Hamilton BB, Sherwin FS.** The functional independence measure: a new tool for rehabilitation. *Adv. Clin. Rehabil.*, 1987. 1: 6-18.

**Khadr SN, Crofton PM, Jones PA, Wardhaugh B, Roach J, Drake AJ, Minns RA, Kelnar CJ.** Evaluation of pituitary function after traumatic brain injury in childhood. *Clin. Endocrinol.*, 2010. 73(5): 637-643.

**King JT Jr, Carlier PM, Marion DW.** Early Glasgow Outcome Scale scores predict long-term functional outcome in patients with severe traumatic brain injury. *J. Neurotrauma.*, 2005. 22(9): 947-954, 2005.

**King LR, Knowles HC Jr, McLaurin RL, Brielmaier J, Perisutti G, Piziak VK.** Pituitary hormone response to head injury *Neurosurgery*, 1981. 9(3): 229-235.

**Kling MA, DeBellis MD, O'Rourke DK, Listwak SJ, Geraciotti TD Jr, McCutcheon IE, Kalogeras KT, Oldfield EH, Gold PW.** Diurnal variation of cerebrospinal fluid immunoreactive corticotropin-releasing hormone levels in healthy volunteers. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1994. 79(6): 233-239.

**Klose M, Lange M, Kosteljanetz M, Poulsgaard L, Feldt-Rasmussen U.** Adrenocortical insufficiency after pituitary surgery: an audit of the reliability of the conventional short synacthen test. *Clin. Endocrinol.*, 2005. 63(5): 499-505.

**Klose M, Juul A, Struck J, Morgenthaler NG, Kosteljanetz M, Feldt-Rasmussen U.** Acute and long-term pituitary insufficiency in traumatic brain injury: a prospective single-centre study. *Clin Endocrinol.*, 2007. 67(4): 598-606. (a)

**Klose M, Juul A, Poulsgaard L, Kosteljanetz M, Brennum J, Feldt-Rasmussen U.** Prevalence and predictive factors of post-traumatic hypopituitarism. *Clin. Endocrinol.*, 2007. 67(2): 193-201. (b).

**Klose M, Brennum J, Poulsgaard L, Kosteljanetz M, Wagner A, Feldt-Rasmussen U.** Hypopituitarism is uncommon after aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Clin. Endocrinol.*, 2010. 73 (1): 95-101.

**Klose M, Stochholm K, Janukonyté J, Lehman Christensen L, Frystyk J, Andersen M, Laurberg P, Christiansen JS, Feldt-Rasmussen U.** Prevalence of posttraumatic growth hormone deficiency is highly dependent on the diagnostic set-up: results from The Danish National Study on Posttraumatic Hypopituitarism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2014. 99(1): 101-110.

**Kokshoorn NE, Smit JW, Nieuwlaat WA, Tiemensma J, Bisschop PH, Groote Veldman R, Roelfsema F, Franken AA, Wassenaar MJ, Biermasz NR, Romijn JA, Pereira AM.** Low prevalence of hypopituitarism after traumatic brain injury: a multicenter study. *Eur. J. Endocrinol.*, 2011. 165(2): 225-231.

**Kornblum RN, Fisher RS.** Pituitary lesions in craniocerebral injuries. *Arch. Pathol.*, 1969. 88(3): 242-248.

**Kotwica Z, Brzezinski J.** Acute subdural haematoma in adults: an analysis of outcome in comatose patients. *Acta. Neurochir.*, 1993. 121(3-4): 95-99.

**Kovács KJ, Miklós IH, Bali B.** GABAergic mechanisms constraining the activity of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2004. 1018: 466-476.

**Kreitschmann-Andermahr I, Hoff C, Saller B, Niggemeier S, Pruemper S, Hütter BO, Rohde V, Gressner A, Matern S, Gilsbach JM.** Prevalence of pituitary deficiency in patients after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2004. 89(10): 4986-4992.

**Kronenberg HM, Shlomo M, Polonsky KS, Larsen PR.** Williams textbook of endocrinology. 11th ed. / Philadelphia: Saunders/Elsevier, 2008.

**Krsmanovic LZ, Hu L, Leung PK, Feng H, Catt KJ.** The hypothalamic GnRH pulse generator: multiple regulatory mechanisms. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2009. 20(8): 402-408.

**Landschulz KT, Pathak RK, Rigotti A, Krieger M, Hobbs HH.** Regulation of scavenger receptor, class B, type I, a high density lipoprotein receptor, in liver and steroidogenic tissues of the rat. *J. Clin. Invest.*, 1996. 98(4): 984-995.

**Layman LC.** Hypogonadotropic hypogonadism. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, 2007. 36(2): 283-296.

**Lechan RM, Fekete C.** Role of thyroid hormone deiodination in the hypothalamus. *Thyroid*, 2005 15(8): 883-897.

**Lee SC, Zasler ND, Kreutzer JS.** Male pituitary-gonadal dysfunction following severe traumatic brain injury. *Brain Inj.*, 1994. 8(6): 571-577.

**Lee VH, Lee LT, Chow BK.** Gonadotropin-releasing hormone: regulation of the GnRH gene. *FEBS J.*, 2008. 275(22): 5458-5478.

**Leong KS, Walker AB, Martin I, Wile D, Wilding J, MacFarlane IA.** An audit of 500 subcutaneous glucagon stimulation tests to assess growth hormone and ACTH secretion in patients with hypothalamic-pituitary disease. *Clin. Endocrinol.*, 2001. 54(4): 463-538.

**Liao N, Vaudry H, Pelletier G.** Neuroanatomical connections between corticotropin-releasing factor (CRF) and somatostatin (SRIF) nerve endings and thyrotropin-releasing hormone (TRH) neurons in the paraventricular nucleus of rat hypothalamus. *Peptides*, 1992. 13(4): 677-680.

**Lindholm J, Kehlet H, Blichert-Toft M, Dinesen B, Riishede J.** Reliability of the 30-minute ACTH test in assessing hypothalamic-pituitary-adrenal function. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1978. 47(2): 272-274.

**Maghnie M, Cosi G, Genovese E, Manca-Bitti ML, Cohen A, Zecca S, Tinelli C, Gallucci M, Bernasconi S, Boscherini B, Severi F, Aricò M.** Central diabetes insipidus in children and young adults. *N. Engl. J. Med.*, 2000. 343(14): 998-1007.

**Marcus-Perlman Y, Tordjman K, Greenman Y, Limor R, Shenkerman G, Osher E, Stern N.** Low-dose ACTH (1 microg) salivary test: a potential alternative to the classical blood test. *Clin. Endocrinol.*, 2006. 64(2): 215-218.

**Martin JB.** Neural regulation of growth hormone secretion. *N. Engl. J. Med.*, 1973. 288(26): 1384-1393.

**Melmed S.** *The pituitary.* 3rd ed. Boston: Academic Press, 2011.

**McKinlay A, Grace RC, Horwood LJ, Fergusson DM, Ridder EM, MacFarlane MR.**

Prevalence of traumatic brain injury among children, adolescents and young adults: prospective evidence from a birth cohort. *Brain Inj.*, 2008. 22(2): 175-181.

**Meeran K, Hattersley A, Mould G, Bloom SR.** Venepuncture causes rapid rise in plasma ACTH. *Br. J. Clin. Pract.*, 1993. 47(5): 246-247.

**Mehta A, Hindmarsh PC, Dattani MT.** An update on the biochemical diagnosis of congenital ACTH insufficiency. *Clin. Endocrinol.*, 2005. 62(3): 307-314.

**Meyer S, Schuetz P, Wieland M, Nusbaumer C, Mueller B, Christ-Crain M.** Low triiodothyronine syndrome: a prognostic marker for outcome in sepsis?, *Endocrine*, 2011. 39(2): 167-174.

**Miller KK, Sesmilo G, Schiller A, Schoenfeld D, Burton S, Klibanski A.** Androgen deficiency in women with hypopituitarism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001. 86(2): 561-567.

**Mori M, Yamada M, Kobayashi S.** Role of the hypothalamic TRH in the regulation of its own receptors in rat anterior pituitaries. *Neuroendocrinology*, 1988. 48(2): 153-159.

**Morita H, Ogino T, Fujiki N, Tanaka K, Gotoh TM, Seo Y, Takamata A, Nakamura S, Murakami M.** Sequence of forebrain activation induced by intraventricular injection of hypertonic NaCl detected by Mn<sup>2+</sup> contrasted T1-weighted MRI. *Auton. Neurosci.*, 2004. 113(1-2): 43-54.

**Müller EE, Locatelli V, Cocchi D.** Neuroendocrine control of growth hormone secretion. *Physiol Rev.*, 1999. 79(2): 511-607.

**Nieman LK, Biller BM, Findling JW, Newell-Price J, Savage MO, Stewart PM, Montori VM.** The diagnosis of Cushing's syndrome: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2008. 93(5): 1526-1540.

**Noppens R, Brambrink AM.** Traumatic brain injury in children--clinical implications. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 2004. 56(1-2):113-125.

**Oishi H, Klausen C, Bentley GE, Osugi T, Tsutsui K, Gilks CB, Yano T, Leung PC.**

The human gonadotropin-inhibitory hormone ortholog RFamide-related peptide-3 suppresses gonadotropin-induced progesterone production in human granulosa cells. *Endocrinology.*, 2012. 153(7): 3435-3445.

**Olivecrona Z, Dahlqvist P, Koskinen LO.** Acute neuro-endocrine profile and prediction of outcome after severe brain injury. *Scand. J. Trauma Resusc. Emerg. Med.*, 2013. 21: 33.



**Parcell DL, Ponsford JL, Rajaratnam SM, Redman JR.** Self-reported changes to nighttime sleep after traumatic brain injury. *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, 2006. 87(2): 278-285.

**Partsch CJ, Mönig H, Sippell WG.** Endokrinologická funkční diagnostika., 5. přeprac. a rozš. vyd. Praha: Galén, 2008.

**Patel YC.** Somatostatin and its receptor family. *Front. Neuroendocrinol.*, 1999. 20(3): 157-198.

**Personnier C, Crosnier H, Meyer P, Chevignard M, Flechtner I, Boddaert N, Breton S, Mignot C, Dassa Y, Souberbielle JC, Piketty M, Laborde K, Jais JP, Viaud M, Puget S, Sainte-Rose C, Polak M.** Prevalence of Pituitary Dysfunction Following Severe Traumatic Brain Injury in Children and Adolescents: a Large Prospective Study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2014. 99(6): 2052-2060.

**Perogamvros I, Owen LJ, Keevil BG, Brabant G, Trainer PJ.** Measurement of salivary cortisol with liquid chromatography-tandem mass spectrometry in patients undergoing dynamic endocrine testing. *Clin. Endocrinol.*, 2010. 72(1): 17-21.

**Plant TM.** Gonadal regulation of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone release in primates. *Endocr. Rev.*, 1986. 7(1):75-88.

**Ponsford JL, Parcell DL, Sinclair KL, Roper M, Rajaratnam SM.** Changes in sleep patterns following traumatic brain injury: a controlled study. *Neurorehabil. Neural. Repair.*, 2013, 27(7): 613-621.

**Regal M, Páramo C, Sierra SM, Garcia-Mayor RV.** Prevalence and incidence of hypopituitarism in an adult Caucasian population in northwestern Spain. *Clin. Endocrinol.*, 2001. 55(6): 735-740.

**Roberts I, Yates D, Sandercock P, Farrell B, Wasserberg J, Lomas G, Cottingham R, Svoboda P, Brayley N, Mazairac G, Laloë V, Muñoz-Sánchez A, Arango M, Hartzenberg B, Khamis H, Yutthakasemsunt S, Komolafe E, Oildashi F, Yadav Y, Murillo-Cabezas F, Shakur H, Edwards P.** Effect of intravenous corticosteroids on death within 14 days in 10008 adults with clinically significant head injury (MRC CRASH trial): randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, 2004. 364(9442): 1321-1328.

**Rosario ER, Aqeel R, Brown MA, Sanchez G, Moore C, Patterson D.** Hypothalamic-pituitary dysfunction following traumatic brain injury affects functional improvement during acute inpatient rehabilitation., 2013. 28(5): 390-396.

**Rosenthal HE, Slaunwhite WR Jr, Sandberg AA.** Transcortin: a corticosteroid-binding protein of plasma. X. Cortisol and progesterone interplay and unbound levels of these steroids in pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1969. 29(3): 352-367.

**Salehi F, Kovacs K, Scheithauer BW, Pfeifer EA, Cusimano M.** Histologic study of the human pituitary gland in acute traumatic brain injury. *Brain Inj.*, 2007. 21(6): 651-656.

**Schmidt IL, Lahner H, Mann K, Petersenn S.** Diagnosis of adrenal insufficiency: Evaluation of the corticotropin-releasing hormone test and Basal serum cortisol in comparison to the insulin tolerance test in patients with hypothalamic-pituitary-adrenal disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003. 88(9): 4193-4198.

**Schneider HJ, Kreitschmann-Andermahr I, Ghigo E, Stalla GK, Agha A.** Hypothalamopituitary dysfunction following traumatic brain injury and aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review. *JAMA*, 2007. 298(12): 1429-1438. (a)

**Schneider HJ, Sämann PG, Schneider M, Croce CG, Corneli G, Sievers C, Ghigo E, Stalla GK, Aimaretti G.** Pituitary imaging abnormalities in patients with and without hypopituitarism after traumatic brain injury. *J. Endocrinol. Invest.*, 2007. 30(4):RC9-RC12. (b)

**Schneider M, Schneider HJ, Yassouridis A, Saller B, von Rosen F, Stalla GK.** Predictors of anterior pituitary insufficiency after traumatic brain injury. *Clin. Endocrinol.*, 2008. 68(2): 206-212.

**Schneider HJ, Schneider M, Kreitschmann-Andermahr I, Tuschy U, Wallaschofski H, Fleck S, Faust M, Renner CI, Kopczak A, Saller B, Buchfelder M, Jordan M, Stalla GK.** Structured assessment of hypopituitarism after traumatic brain injury and aneurysmal subarachnoid hemorrhage in 1242 patients: the German interdisciplinary database. *J. Neurotrauma.*, 2011. 28(9): 1693-1698.

**Smith DH, Meaney DF, Shull WH.** Diffuse axonal injury in head trauma. *J. Head Trauma Rehabil.*, 2003. 18(4):307-316.

**Smith JT, Clarke IJ.** Gonadotropin inhibitory hormone function in mammals. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2010. 21(4): 255-260.

**Smith MJ, Jennes L.** Neural signals that regulate GnRH neurones directly during the oestrous cycle. *Reproduction*, 2001.122(1): 1-10.

**Sousa EB, Brandão LF, Tavares CB, Borges IB, Neto NG, Kessler IM.** Epidemiological characteristics of 778 patients who underwent surgical drainage of chronic subdural hematomas in Brasília, Brazil. *BMC Surg.* 2013 13: 5.

**Sternberg EM, Chrousos GP, Wilder RL, Gold PW.** The stress response and the regulation of inflammatory disease. *Ann. Intern. Med.*, 1992. 117(10): 854-866.

**Stewart PM, Seckl JR, Edwards CR, Padfield PL.** A rational approach for assessing the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Lancet*, 1988. 28(8596): 1208-1210.

**Sun Y, Lu X, Gershengorn MC.** Thyrotropin-releasing hormone receptors - similarities and differences. *J. Mol. Endocrinol.*, 2003. 30(2): 87-97.

**Šimůnková K, Stárka L, Hill M, Kříž L, Hampl R, Vondra K.** Comparison of total and salivary cortisol in a low-dose ACTH (Synacthen) test: influence of three-month oral contraceptives administration to healthy women. *Physiol. Res.*, 2008. 57 Suppl 1: 193-199.

**Tagliaferri F, Compagnone C, Korsic M, Servadei F, Kraus J.** A systematic review of brain injury epidemiology in Europe. *Acta Neurochir.*, 2006. 148(3): 255-268.

**Tanriverdi F, De Bellis A, Bizzarro A, Sinisi AA, Bellastella G, Pane E, Bellastella A, Unluhizarci K, Selcuklu A, Casanueva FF, Kelestimur F.** Antipituitary antibodies after traumatic brain injury: is head trauma-induced pituitary dysfunction associated with autoimmunity? *Eur. J. Endocrinol.*, 2008. 159(1): 7-13.

**Tanriverdi F, De Bellis A, Ulutabanca H, Bizzarro A, Sinisi AA, Bellastella G, Amoresano Paglionico V, Dalla Mora L, Selcuklu A, Unluhizarci K, Casanueva FF, Kelestimur F.** A five year prospective investigation of anterior pituitary function after traumatic brain injury: is hypopituitarism long-term after head trauma associated with autoimmunity? *J. Neurotrauma*, 2013. 30(16): 1426-1433.

**Thaler LM, Blevins LS Jr.** The low dose (1-microg) adrenocorticotropin stimulation test in the evaluation of patients with suspected central adrenal insufficiency. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998. 83(8): 2726-2729.

**Thompson DO, Hurtado TR, Liao MM, Byyny RL, Gravitz C, Haukoos JS.** Validation of the Simplified Motor Score in the Out-of-Hospital Setting for the Prediction of Outcomes After Traumatic Brain Injury. *Ann. Emerg. Med.*, 2011. 58(5): 417-425.

**Tomlinson JW, Holden N, Hills RK, Wheatley K, Clayton RN, Bates AS, Sheppard MC, Stewart PM.** Association between premature mortality and hypopituitarism. West Midlands Prospective Hypopituitary Study Group. *Lancet*, 2001. 357(9254):425-431.

**Toney TW, Pawsat DE, Fleckenstein AE, Lookingland KJ, Moore KE.** Evidence that prolactin mediates the stimulatory effects of estrogen on tuberoinfundibular dopamine neurons in female rats. *Neuroendocrinology*, 1992. 55(3): 282-289.

**Tsatsanis C, Dermizaki E, Venihaki M, Chatzaki E, Minas V, Gravanis A, Margioris AN.** The corticotropin-releasing factor (CRF) family of peptides as local modulators of adrenal function. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2007. 64(3): 1638-1655.

**Twijnstra A, Minderhoud JM.** Inappropriate secretion of antidiuretic hormone in patients with head injuries. *Clin. Neurol. Neurosurg.*, 1980. 82(4): 263-268.

**Ulutabanca H, Hatipoglu N, Tanriverdi F, Gökoglu A, Keskin M, Selcuklu A, Kurtoglu S, Kelestimur F.** Prospective investigation of anterior pituitary function in the acute phase and 12 months after pediatric traumatic brain injury. *Childs Nerv. Syst.*, 2014. 30(6): 1021-1028, 2014.

**Vallar L, Meldolesi J.** Mechanisms of signal transduction at the dopamine D2 receptor. *Trends Pharmacol. Sci.*, 1989. 10(2): 74-77.

**Van Gijn J, Kerr RS, Rinkel GJ.** Subarachnoid haemorrhage. *Lancet*, 2007. 369(9558): 306-318.

**Walker WC, Seel RT, Curtiss G, Warden DL.** Headache after moderate and severe traumatic brain injury: a longitudinal analysis. *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, 2005. 86(9): 1793-1800.

**Watts AG.** Glucocorticoid regulation of peptide genes in neuroendocrine CRH neurons: a complexity beyond negative feedback. *Front Neuroendocrinol.*, 2005. 26(3-4): 109-130.

**Weir BK.** Results of burr hole and open or closed suction drainage for chronic subdural hematomas in adults. *Can. J. Neurol. Sci.*, 1983. 10(1): 22-26.

**Won YD, Kim CH, Cheong JH, Kim JM.** Refractory diabetes insipidus following drainage of chronic subdural haematoma. *Brain Inj.*, 2013. 27(9): 1087-1089.

**Woolf PD, Lee LA, Hamill RW, McDonald JV.** Thyroid test abnormalities in traumatic brain injury: correlation with neurologic impairment and sympathetic nervous system activation. *Am. J. Med.*, 1988. 84(2): 201-208.

**Yamashita S, Weiss M, Melmed S.** Insulin-like growth factor I regulates growth hormone secretion and messenger ribonucleic acid levels in human pituitary tumor cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1986. 63(3): 730-5.

**Yuan XQ, Wade CE.** Neuroendocrine abnormalities in patients with traumatic brain injury. *Front Neuroendocrinol.*, 1991. 12(3): 209-230.

**Zheng H, Bailey A, Jiang MH, Honda K, Chen HY, Trumbauer ME, Van der Ploeg LH, Schaeffer JM, Leng G, Smith RG.** Somatostatin receptor subtype 2 knockout mice are refractory to growth hormone-negative feedback on arcuate neurons. *Mol. Endocrinol.*, 1997. 11(11): 1709-1717.

**Zheng P, He B, Tong WS.** Decrease in pituitary apparent diffusion coefficient in normal appearing brain correlates with hypopituitarism following traumatic brain injury. *J. Endocrinol. Invest.*, 2014. 37(3): 309-312.

## 14. Přílohy

### 14.1. Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 17.8.2014

MUDr. Mikuláš Kosák

Podpis

## 14.2. Identifikační záznam

KOSÁK, Mikuláš. *Hypothalamo-hypofyzární dysfunkce a jejich hodnocení za různých patologických stavů. [Impairment of hypothalamo-pituitary function and its evaluation in various pathologic situations]*. Praha, 2014. 109 s. Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, III. Interní klinika. Školitel Hána, Václav.

**Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta**  
**Kateřinská 32, Praha 2**

**Prohlášení zájemce o nahlédnutí**  
**do závěrečné práce absolventa studijního programu**  
**uskutečňovaného na 1. lékařské fakultě Univerzity Karlovy v Praze**

Jsem si vědom/a, že závěrečná práce je autorským dílem a že informace získané nahlédnutím do zpřístupněné závěrečné práce nemohou být použity k výtěžným účelům, ani nemohou být vydávány za studijní, vědeckou nebo jinou tvůrčí činnost jiné osoby než autora.

Byl/a jsem seznámen/a se skutečností, že si mohu pořizovat výpisy, opisy nebo kopie závěrečné práce, jsem však povinen/a s nimi nakládat jako s autorským dílem a zachovávat pravidla uvedená v předchozím odstavci.

<b>Příjmení, jméno (hůlkovým písmem)</b>	<b>Číslo dokladu totožnosti vypůjčitele (např. OP, cestovní pas)</b>	<b>Signatura závěrečné práce</b>	<b>Datum</b>	<b>Podpis</b>

