

Extrémně nízké hladiny SHBG jako důsledek polymorfizmu Pro156Leu v genu pro SHBG – kazuistiky dvou žen se syndromem polycystických ovarií

M. Vaňková, S. Pražáková, P. Lukášová, J. Včelák, D. Vejražková, O. Bradnová, K. Dvořáková, J. Vrbíková, B. Bendlová

Oddělení molekulární endokrinologie Endokrinologického ústavu Praha, ředitel doc. MUDr. Vojtěch Hainer, CSc.

Souhrn: Předkládané kazuistiky ukazují klinické projevy 2 žen se syndromem polycystických ovarií s extrémně nízkými hladinami SHBG (Sex Hormone Binding Globulin) v séru, u kterých byl detekován raritní funkční polymorfismus Pro156Leu v genu pro SHBG v homozygotním stavu.

Klíčová slova: SHBG – polymorfismus – syndrom polycystických ovarií

Extremely low SHBG level in consequence of Pro156Leu SHBG polymorphism – case reports of two women with polycystic ovary syndrome

Summary: Presented case reports illustrate clinical manifestations of two women with polycystic ovary syndrome who had extremely low serum SHBG levels (Sex Hormone Binding Globulin) due to homozygote carriership of the rare Pro156Leu SHBG polymorphism.

Key words: SHBG – polymorphism – polycystic ovary syndrome

Úvod

Syndrom polycystických ovarií (PCOS) představuje nejčastější endokrinopatii u žen ve fertilním věku. Jedná se o klinicky i biochemicky značně heterogenní onemocnění. V současnosti existuje několik kritérií pro stanovení diagnózy, která odrážejí nejednotný názor na etiologii onemocnění, na diagnostická kritéria a na symptomatologii.

První přesnější definice onemocnění PCOS byla přijata v roce 1990 na konferenci pod záštitou NIH/NICHHD (National Institutes of Health/National Institute of Child Health and Human Development) [1]. Podle této definice jde o syndrom se širokým spektrem fenotypických manifestací, kde nejdůležitější jsou klinické projevy hyperandrogenizmu (akné, hirsutismus, androgenní alopecie), hyperandrogenemie (zvýšené hladiny androgenů) a přítomnost oligo- nebo anovulace. Na rozdíl od kritérií Evropské společnosti pro lidskou reprodukci a embryologii (ESHRE – European Society of Human Reproduction & Embryology) a Americké společnosti pro repro-

dukční medicínu (ASRM – American Society for Reproductive Medicine) [2] a mezinárodní organizace AES (Androgen Excess Society) [3], nezahrnuje NIH/NICHHD do diagnostických kritérií přítomnost sonografického nálezu polycystických ovarií. Častý familiární výskyt syndromu ukazuje na význam genetického pozadí v patogenezi PCOS. U komplexních onemocnění, včetně PCOS, se na výsledném fenotypu podílí více genů v kombinaci s faktory vnějšího prostředí (životní styl, dieta, pohyb, stres apod.). V genetických analýzách komplexních onemocnění jsou často využívány asociační studie založené na studiu kandidátních genů, které mají vliv (nebo se u nich tento vliv předpokládá) na metabolické a regulační mechanismy účastnící se na rozvoji onemocnění. Hodnotí se rozdíl ve frekvencích polymorfizmů mezi skupinami pacientů a zdravých kontrol a jejich případný vliv na sledované metabolické, hormonální a další parametry.

Kandidátních genů v souvislosti s PCOS byla studována řada, některé byly na základě negativních výsledků

vyřazeny nebo je jejich role zpochybňována, u některých však byla pozitivní asociace s onemocněním potvrzena více nezávislými studiemi. Do skupiny potvrzených kandidátních genů patří i gen pro SHBG (Sex Hormone Binding Globulin – vazebný protein pro pohlavní hormony). Podrobný přehled kandidátních genů pro PCOS je např. v monografii Azziz et al [4].

Častým nálezem u žen s PCOS jsou nízké koncentrace SHBG. Lidský SHBG je syntetizován především v játrech, ale i dalších tkáních, např. v mozku, placenta, endometriu a u mužů ve varlatech. Poruchy v metabolismu SHBG patří, kromě chybné steroidogeneze, mezi uvažované příčiny zvýšené hladiny androgenů. Volného, tj. biologicky aktivního testosteronu cirkuluje v krevním oběhu žen méně než 3 %, protože většina androgenů je vázána právě na SHBG. Takto navázaný androgen je biologicky neaktivní. Proto podmínky vedoucí ke snížení hladiny SHBG vedou v cirkulaci ke zvýšení frakce volných androgenů [5].

V cirkulaci SHBG váže s vysokou afinitou androgeny a s nižší afinitou es-

trogeny a jeho koncentrace v krvi určuje dostupnost volných, tzn. na proteiny nevázaných pohlavních hormonů v cílových tkáních. U pacientek s PCOS tak mohou být i při normálních hladinách androgenů jejich skutečné, biologicky aktivní koncentrace zvýšeny.

Hladina SHBG přímo souvisí s dalšími faktory. Hladinu SHBG snižuje vyšší inzulinémie, prolaktin, růstový hormon, dále přítomnost obezity a svou roli hraje i postmenopauzální věk. Naopak vyšší hladiny SHBG souvisí s vyššími hladinami tyreoidálních hormonů, s těhotenstvím a jsou charakteristické pro ženy užívající hormonální antikoncepci [6,7].

Vedle biochemických faktorů ovlivňujících hladinu SHBG v krvi je v současnosti studován i genetický vliv polymorfizmů v genu pro SHBG, které by mohly pozměňovat produkci, funkci nebo metabolismus proteinu a přispívat k variabilitě koncentrace SHBG. V lidském genu pro SHBG bylo popsáno několik variant v kódující i v regulační oblasti [8].

Jedním z nich je jednonukleotidová tranziční C za T (CCG → CTG) v exonu 4, která způsobuje záměnu prolinu za leucin ve 156. kodónu. Nachází se na sestřihovém místě pro restriční endonukleázu MspI na hranici mezi 4. exonem a 4. intronem. Tento polymorfismus neovlivňuje schopnost proteinu vázat steroidní ligand, je však příčinou abnormální glykozylace a vede ke snížení sekrece SHBG.

Cílem naší práce bylo popsat klinický obraz 2 pacientek s PCOS, u kterých jsme detekovali homozygotní variantu genotypu minoritní alely polymorfizmu Pro146Leu (rs 6258).

Kazuistika 1

29letá žena byla v roce 2008 odeslána gynekologem na naše pracoviště k odbornému endokrinologickému vyšetření pro sekundární sterilitu a hyperandrogenní stav. PCOS nebyl v období před těhotenstvím prokázán.

Ve 20 letech spontánně otěhotněla a porodila zdravou dceru, od té

doby až do roku 2004, tj. 5 let, užívala hormonální antikoncepci – norgestima 0,25 mg + ethinylestradiol 0,035 mg (Cilest). Po vysazení byl menstruační cyklus nepravidelný v rozmezí 14–60 dní a snaha o opětovné otěhotnění nebyla úspěšná. Je v péči centra pro asistovanou reprodukci, kde diagnostikovali PCOS a nasadili antiestrogen – 50 mg klomifen citrátu (Clostilbegyt). Pacientka je nekuřačka, alergii uvádí jen na včely, s jiným onemocněním se neléčí a rodinná anamnéza ve smyslu metabolických a hormonálních poruch je bezvýznamná.

Biochemická vyšetření ukazují mírnou dyslipidemii, cholesterol 5,72 mmol/l (norma do 5,2 mmol/l), HDL-cholesterol 1,36 mmol/l (norma nad 1,68 mmol/l), LDL-cholesterol 3,77 mmol/l (norma do 3,34 mmol/l) a vyšší ALT 0,79 μ kat/l (norma do 0,58 μ kat/l). Ze steroidních hormonů je hraničně vyšší jen testosteron – 3,17 nmol/l (norma do 3 nmol/l), v normě jsou kortizol, estradiol, 17-hydroxyprogesteron, androstendion, progesteron, dehydroepiandrosteron a jeho sulfát (DHEA, DHEAS), luteinizační (LH) i folikulosstimulační hormon (FSH) a prolaktin. Co je ale naprosto výjimečné, je abnormálně nízká hladina SHBG 1,3 nmol/l (norma 43,2–94,8 nmol/l)! Vypočítaná hodnota volného testosteronu je tak nesmyslně vysoká 243,85. Objektivně byla nemocná bez projevů hirsutizmu (skóre Ferrimana a Galwayové bylo 0). Po prvním vyšetření byl stav uzavřen jako PCOS, sekundární amenorrhoa, sekundární sterilita, hyperandrogenemie s pozitivním nálezem PCO. Z dalších vyšetření byla zjištěna normální glukózová tolerance, ale bazální i stimulovaná hyperinzulinemie. Bazální inzulin byl 13,5 mIU/l (norma do 24,5 mIU/l), ale C-peptid 0,98 nmol/l (norma do 0,9 nmol/l), maximální hodnota inzulinu byla ve 30. min OGTT 106,7 mIU/l a C-peptidu v 60. min OGTT 3,47 nmol/l. Pacientka udává nárůst hmotnosti o 10 kg za poslední rok, nicméně hod-

nota BMI 25,5 kg/m² je i po váhovém přírůstku na hranici normální hmotnosti a nadváhy. Udává však, že se jí nedaří hmotnost snížit. Pacientce bylo doporučeno pokračovat s užíváním klomifen citrátu, pokud by do 3 měsíců nedošlo ke změně, je k úvaze nasazení metforminu.

Kazuistika 2

24letá žena je od roku 2003 na našem pracovišti primárně léčena pro tyreoidální autoimunitu. Udává však i vypadávání vlasů, akné a nepřítomnost menstruačního cyklu i při užívání hormonální antikoncepce, proto byla doporučena na vyšetření s podezřením na PCOS.

Pacientka uvedla amenorrhoeu do 18 let věku, kromě léčené tyreopatie neudává žádné další onemocnění nebo alergie, v rodinné anamnéze kromě tyreopatie u matky a její sestry nejsou žádná další onemocnění.

Z biochemických vyšetření je vidět mírná hypercholesterolemie 6,12 mmol/l, v hormonálním spektru je vyšší TSH 5,62 mIU/l (norma do 4,2 mIU/l) a normální hladiny všech vyšetřených steroidních hormonů (kortizol, testosteron, androstendion, estradiol, progesteron, 17-hydroxyprogesteron, DHEA, DHEAS, LH, FSH) a prolaktinu. Ve vyšetření dominuje neměřitelně nízká hladina SHBG! Hodnotu volného testosteronu nebylo možné vypočítat. Sonografické vyšetření malé pánve vaginální sondou je bez patologického nálezu. Pacientka je štíhlá, hodnota BMI 21,5 kg/m² je v pásmu normální hmotnosti. Stav byl uzavřen jako PCOS s primární amenorrhoeou. Pacientce byla předepsána antikoncepce – gestoden 0,075 mg + etynliestradiol 0,02 mg (Logest), po kterém se dostavilo krvácení ze spádu. Jeho užívání ale špatně snášela, udávala především psychické problémy a nárůst hmotnosti o 2,5 kg. Při dalších kontrolách byla opakovaně zaznamenána mírná hypercholesterolemie 5,66–6,59 mmol/l, normální hladiny testosteronu, ale vysoká hladina androstendionu 11,5 nmol/l po 6 mě-

sících užívání Logestu a 14,07 nmol/l po dalších 6 měsících (norma do 9,4 nmol/l). Hladina SHBG zůstává neměřitelně nízká. Subjektivně se pacientka cítí lépe, především díky ústupu akné a návratu k původní hmotnosti. V listopadu roku 2006 pacientka vysadila antikoncepci a při kontrole v lednu roku 2007 je vidět zhoršení akné, ale menstruační cyklus je pravidelný (28 dní) a došlo k úpravě cholesterolu do normy. Znovu byla předepsána antikoncepce – dienogest 2 mg + ethinyl-estradiol 0,03 mg (Jeanine) a dále antiandrogenně působící spironolakton v dávce 50 mg (Verospiron). Při dalších kontrolách až do prosince roku 2008 zaznamenáno zlepšení akné a výpadu vlasů, ale opět stoupá cholesterol nad 6 mmol/l. Pacientka uvažuje o vysazení léčby, protože plánuje graviditu.

Diskuze

Přestože obě pacientky mají stejnou genetickou variantu funkčního polymorfizmu, který je zodpovědný za velmi nízké až téměř neměřitelné hodnoty SHBG v krvi a s tím související klinické projevy hyperandrogenizmu, celkový klinický obraz pacientek není zcela totožný. První pacientka nejprve neměla problémy s otěhotněním a v období před otěhotněním neměla hyperandrogenní projevy PCOS a měla normální menstruační cyklus. Problém nastal až po vysazení antikoncepce 5 let po porodu, kdy byla zaznamenána sekundární amenorrhoea, sekundární sterilita, mírná hyperandrogenemie a přítomnost PCO. Z metabolických parametrů, které jsou uváděny v souvislosti s vlivem na hladiny SHBG v krvi, jsme zaznamenali bazální i glukózou stimulovanou hyperinzulinemii. Otázka je, zda a jakým způsobem by mohla inzulinová rezistence nebo samotný inzulin způsobovat hyperandrogenemii. Inzulin může vznik hyperandrogenemie u PCOS ovlivňovat přímo i nepřímo. Řada studií potvrdila vliv inzulinu na ovariální thekální buňky in vitro. Thekální buňky polycystických ovarí jsou citlivější

a prokazují vyšší steroidogenní odpověď na inzulin [9]. Inzulin také stimuluje proliferaci a potlačuje apoptózu thekálních buněk [10], navíc potlačuje jaterní produkci SHBG [11].

Přímý vliv inzulinu na vznik ovulační dysfunkce není zcela zřejmý. Zvýšené hodnoty inzulinu nebo jeho aktivity mohou narušovat hypotalamo-hypofyzární dráhu kontroly ovulace. Inzulin stimuluje sekreci gonadoliberinu v hypotalamu a má vliv na sekreci gonadotropinů v hypofýze, kde především zvyšuje tvorbu luteinizačního hormonu [12]. Vznik jak inzulinové rezistence, tak hyperandrogenizmu by mohla vysvětlit hypotéza o vyšší serinové fosforylaci. Pokud totiž nastane u podjednotky β inzulinového receptoru, inhibuje se přenos signálu membránovým glykoproteinem, a tím celý mechanismus glukózového transportu. Serinová fosforylace však mění i aktivitu klíčového enzymu cytochromu P-450c17 v syntéze androgenů. Vede ke stimulaci lyázové aktivity tohoto enzymu, a tedy i k vyšší produkci androgenů. Mohlo by se jednat o stejný enzym, a tak by jedna genetická porucha mohla zapříčinit jak vznik inzulinové rezistence, tak hyperandrogenizmu [13]. Tato hypotéza však zatím nebyla prokázána.

Zajímavé jsou práce z posledních let, které obrací pozornost k příčinám častých poruch menstruačního cyklu u pacientek s diabetem 1. typu v souvislosti s léčbou pomocí intenzifikovaných inzulinových režimů. Tyto pacientky mají ovaria vystavená suprafyziologickým dávkám exogenního inzulinu, což by mohlo vést k nadprodukci androgenů a k rozvoji PCOS. Zatímco u pacientek s diabetem 2. typu a současně s PCOS přítomnost inzulinorezistence a hyperglykemie vede ke snížení syntézy vazebných proteinů v játrech, včetně SHBG, u pacientek s diabetem 1. typu a současně s PCOS jsou hladiny SHBG nezměněny [14]. Zdá se tedy, že exogenní hyperinzulinemie v důsledku inzulinové léčby nestačí k potlačení produkce SHBG v játrech. Ke stejným výsledkům dospěla i Kvasničková et

al [15] u souboru českých diabetiček 1. typu.

Druhá pacientka má primární amenorrhoeu a klinické projevy hyperandrogenizmu (akné, alopecii) při normálních hodnotách celkových androgenů. Sonografické vyšetření ovarí bylo vždy bez patologického nálezu. Zajímavým nálezem u této pacientky je subklinická hypotyreóza s negativním nálezem autoprotilátek a normální strukturou štítné žlázy, ale s vysokou rodinnou zátěží autoimunitních tyreopatií. V poslední době se objevují práce hledající souvislosti PCOS s autoimunitními onemocněními. Na současném výskytu autoimunitních onemocnění a PCOS by se mohla podílet inzulinová rezistence, která je často jejich společnou charakteristikou, nebo nízké hladiny progesteronu, které podporují vznik autoimunitních onemocnění. Podrobný přehled o autoimunitních onemocněních v souvislosti s PCOS je v práci Petříkové et al [16], která byla nedávno publikována ve Vnitřním lékařství.

Obě pacientky jsou štíhlé, vliv obezity je tedy vyloučen. Je však možné, že hyperinzulinemie u první pacientky může souviset s hmotnostním přírůstkem, přestože hodnota BMI je i po tomto přírůstku v normě.

Závěr

Závěrem lze shrnout, že minoritní alela vzácného, ale funkčního polymorfizmu Pro156Leu (rs6258) vede k extrémnímu snížení hladin SHBG v krvi u homozygotních nositelů, způsobuje nadbytek volných androgenů v cílových tkáních, ale nelze ji považovat za jednoznačnou příčinu dalších klinických projevů, např. oligo/anovulaci nebo sterilitu. Nicméně extrémně nízká hodnota SHBG otevírá otázku vhodné a účinné léčby.

Podpořeno grantem IGA MZČR NS 9839-4.

Literatura

1. Zawadzki JK, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: towards a rational approach. In: Dunaif A, Givens JR, Haseltine FP et al (eds). Polycystic

Ovary Syndrome. Boston: Blackwell Scientific 1992: 377–384.

2. Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). Hum Reprod 2004; 19: 41–47.
3. Azziz R, Carmina E, Dewailly D et al. Androgen Excess Society. Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. J Clin Endocrinol Metab 2006; 91: 4237–4245.
4. Azziz R. The polycystic ovary syndrome: Current concepts on Pathogenesis and clinical care. New York: Springer science + Business Media 2007.
5. Marshall K. Polycystic ovary syndrome: clinical considerations. Altern Med Rev 2001; 6: 272–292.
6. Pugeat M, Nader N, Hogeveen K et al. Sex hormone-binding globulin gene expression in the liver: drugs and the metabolic syndrome. Mol Cell Endocrinol 2010; 316: 53–59.
7. De Leo V, Di Sabatino A, Musacchio MC et al. Effect of oral contraceptives on markers of hyperandrogenism and SHBG in women with polycystic ovary syndrome. Contraception 2010; 82: 276–280.
8. Xita N, Tsatsoulis A. Genetic variants of sex hormone-binding globulin and their biological consequences. Mol Cell Endocrinol 2010; 316: 60–65.
9. Nestler JE, Jakubowicz DJ, de Vargas AF et al. Insulin stimulates testosterone biosynthesis by human thecal cells from women with polycystic ovary syndrome by activating its own receptor and using inositolglycan mediators as the signal transduction system. J Clin Endocrinol Metab 1998; 83: 2001–2005.
10. Spaczynski RZ, Tilly JL, Mansour A et al. Insulin and insulin-like growth factors inhibit and luteinizing hormone augments ovarian theca-interstitial cell apoptosis. Mol Hum Reprod 2005; 11: 319–324.
11. Dunaif A, Green G, Futterweit W et al. Suppression of hyperandrogenism does not improve peripheral or hepatic insulin resistance in polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab 1990; 70: 699–704.
12. Conway GS, Honour JW, Jacobs HS. Heterogeneity of the polycystic ovary syndrome: clinical, endocrine and ultrasound features in 556 patients. Clin Endocrinol 1989; 30: 459–470.
13. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. Endocr Rev 1997; 18: 774–800.
14. Codner E, Soto N, Lope P et al. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome and ovarian morphology in women with type 1 diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab 2006; 91: 2250–2256.
15. Kvasničková H, Vrbíková J, Hanáček J et al. Výskyt syndromu polycystických ovárií a hyperandrogenemie u pacientek s diabetes mellitus 1. typu. Prakt Lék 2010; 90: 224–228.
16. Períková J, Lazúrová I. Syndróm polycystických ovárií a autoimunitné ochorenia. Vnitř Lék 2010; 56: 414–417.

RNDr. Markéta Vaňková, Ph.D.

www.endo.cz

e-mail: mvankova@endo.cz

Doručeno do redakce: 4. 10. 2010