

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Doktorský studijní program v biomedicině

Studijní obor: Experimentální chirurgie



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

MUDr. Vojtěch Fiala, FEBU

Vliv kojenecké minipuberty na vývoj nesestouplého varlete

The role of an infant minipuberty in the development of undescended testis

Typ závěrečné práce

Disertační

Vedoucí závěrečné práce/Školitel: doc. MUDr. Radim Kočvara, CSc.

Praha, 2024

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, dne 23.12.2024

Vojtěch Fiala

Identifikační záznam:

FIALA, Vojtěch. *Vliv kojenecké minipuberty na vývoj nesestouplého varlete. [The role of an infant minipuberty in the development of undescended testis]*. Praha, 2024. Počet stran 110, počet příloh 4. Disertační práce. Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, Urologická klinika 1. LF UK 2024. Školitel Kočvara, Radim.

Poděkování

V první řadě bych rád poděkoval svému školiteli Doc. MUDr. Radimu Kočvarovi, CSc. za jeho vysoce odbornou vědeckou výchovu, inspirující vzor pracovitosti, péle a lidského přístupu.

Děkuji za klinický průběh studie kolektivu lékařů, sester a dalšího personálu dětského oddělení Urologické Kliniky VFN a 1. LF UK v Praze. Dále můj dík za spolupráci patří i kolektivu Kliniky pediatrie a dědičných poruch metabolismu VFN a 1. LF UK.

Rád bych též poděkoval kolektivu ÚLBLD, zejména pak prof. MUDr. Martě Kalousové, PhD. a Doc. Ing. Drahomíře Springer, PhD.

Ing. Stanislavu Kormundovi děkuji za statistickou analýzu a konzultace statistického testování.

Děkuji vedení kliniky za podporu studie: původnímu vedení během první části projektu (Profesoru MUDr. Tomáši Hanušovi, DrSc. a prim. MUDr. Liboru Zámečnickovi, PhD. A současnému přednostovi kliniky Prof. MUDr. Viktoru Soukupovi, PhD. a primární MUDr. Michalu Pešlovi.

Konečně moje vděčnost patří především mé rodině, manželce Petře a dětem Vojtěchovi a Magdaleně, za jejich nekonečnou trpělivost a toleranci mých pracovních a vědeckých aktivit. Díky!

Obsah

<i>Abstrakt</i>	9
<i>Abstract</i>	9
<i>Seznam použitých zkratek</i>	10
<i>1. Vývoj a sestup varlete</i>	10
1.1. Sestup varlete	10
1.2. Vývoj varlete.....	13
1.2.1. Prenatální vývoj varlete.....	13
1.2.2. Postnatální vývoj varlete	13
<i>2. Hypotalamo – hypofyzární osa dětí</i>	14
2.1. Význam	14
2.2. Aktivace hypotalamo-hypofyzo-gonadální osy	15
2.3. Průběh minipuberty	16
2.4. Spektrum vyšetřovaných hormonů.....	17
2.4.1. Gonadotropiny.....	18
2.4.2. Testosteron	18
2.4.3. AMH	19
2.4.4. Inhibin B.....	20
<i>3. Kryptorchismus</i>	22
3.1. Úvod.....	22
3.1.1. Nesestouplé varle a riziko vzniku nádoru varlete.....	23
3.1.2. Patogeneze infertility	24
3.2. Klasifikace	24
3.3. Diagnostika	25
3.4. Léčba	26
3.4.1. Terapeutické možnosti	26
3.4.2. Načasování léčby	27
3.4.3. Biopsie varlete.....	27
3.4.4. Kryoprezervace.....	27
3.4.5. Hormonální neo/adjuvantní léčba	28
3.4.5.1. Hormonální preparáty k léčbě	28
<i>4. Hypotézy a cíle práce</i>	28
<i>5. Materiál a metodika</i>	30

5.1.	Nábor pacientů do studie.....	30
5.2.	Etické schválení a financování projektu	30
5.3.	Protokol studie.....	32
5.4.	Fyzikální a ultrasonografické vyšetření	33
5.5.	Odběry a zpracování biologického materiálu	34
5.6.	Hormonální léčba	35
5.7.	Statistické zhodnocení	35
6.	<i>Výsledky</i>	36
6.1.	Základní charakteristika souboru.....	36
6.1.1.	Studijní skupina.....	36
6.1.1.1.	Vstupní vyšetření ve třech měsících věku.....	36
6.1.1.2.	Kontrolní vyšetření v šesti měsících věku.....	36
6.1.1.3.	Perioperační vyšetření	37
6.1.2.	Kontrolní skupina – vyšetření ve třech měsících	37
6.2.	Anatomické a hormonální nálezy	38
6.2.1.	Vyšetření ve třech měsících, minipuberta	38
6.2.2.	Vyšetření ve třech měsících, minipuberta - hodnocení statisticky významných výsledků 40	
6.3.	Srovnání vývoje anatomického a hormonálního nálezu u unilaterálního kryptorchizmu 41	
6.3.1.	Délka penisu (SPL)	42
6.3.2.	Celkový objem testikulární tkáně (součet objemů obou varlat).....	43
6.3.3.	Objem kontralaterálního sestouplého varlete.....	44
6.3.4.	Objem nesestouplého varlete.....	45
6.3.5.	SHBG	46
6.3.6.	LH	47
6.3.7.	FSH	48
6.3.8.	Estradiol.....	49
6.3.9.	Progesteron	50
6.3.10.	Testosteron.....	51
6.3.11.	volný Testosteron	52
6.3.12.	Inhibin B	53
6.3.13.	Antimülleriánský hormon (AMH).....	54
6.4.	Vyhodnocení vývoje sledovaných parametrů ve skupině s podanou hormonální léčbou 55	

6.4.1. Délka nataženého penisu (SPL).....	56
6.4.2. Celkový objem testikulární tkáně	57
6.4.3. Objem sestouplého varlete	58
6.4.4. Objem nesestouplého (operovaného) varlete	59
6.4.5. SHBG	60
6.4.6. LH	61
6.4.7. FSH	62
6.4.8. Estradiol.....	63
6.4.9. Progesteron.....	64
6.4.10. Testosteron.....	65
6.4.11. volný Testosteron.....	66
6.4.12. Inhibin B.....	67
6.4.13. AMH	68
6.5. Bilaterálně nesestouplé varle – vývoj nálezu.....	69
6.5.1. Délka nataženého penisu	70
6.5.2. Celkový objem testikulární tkáně	71
6.5.2. Objem pravého varlete	72
6.5.4. Objem levého varlete.....	73
6.5.5. SHBG.....	74
6.5.6. LH	75
6.5.7. FSH	76
6.5.8. Estradiol.....	77
6.5.9. Progesteron.....	78
6.5.10. Testosteron.....	79
6.5.11. Inhibin B.....	80
6.5.12. AMH	81
6.6. Analýza mateřského mléka – studijní skupina	82
6.6.1. LH	82
6.6.2. FSH	83
6.6.3. Estradiol.....	84
6.6.4. Progesteron	85
6.7. Analýza mateřského mléka – kontrolní skupina	86
6.7.1. LH	86
6.7.2. FSH	87

6.7.3. Estradiol.....	88
6.7.4. Progesteron	89
7. <i>Hodnocení výsledků a diskuse</i>	90
8. <i>Závěr</i>	96
9. <i>Seznam použité literatury</i>	96
10. <i>Přehled publikační činnosti k tématu disertace</i>	107
<i>Přílohy</i>	108

Abstrakt

Maturace spermatogonií je dáována do souvislosti s postnatální minipubertou. Recentně je navrhována u pacientů indikovaných k operační léčbě buď plošná neoadjuvantní hormonální léčba či adjuvantní podle peroperační biopsie. Souvislost s průběhem minipuberty ani s anatomickým či genetickým nálezem nebyla u sledovaných pacientů studována. Cílem práce je stanovit vztah minipuberty k sestupu varlete a jeho anatomii, stanovit účinek hormonální léčby na sestup varlete, na hormonální hladiny, na výskyt anatomických abnormalit, a určit možný vliv hormonů v mateřském mléce. Bude provedeno monitorování kojenců od 3 měsíců života a vyšetřeno mléko kojících matek. Chlapci s potvrzeným kryptorchizmem v 6 měsících věku budou randomizovaně buď určeni přímo k operační léčbě, nebo nejprve předléčeni analogem LHRH a pak operováni. Bude vytvořena kontrolní skupina kojenců v minipubertě bez kryptorchizmu. Nemocní budou sledováni do puberty. Získaná data umožní stanovit kritéria pro hormonální léčbu místo invazivní a potenciálně škodlivé biopsie a současně mohou být pilotními pro dlouhodobou multicentrickou studii.

Klíčová slova: minipuberta, kryptorchizmus, infertilita, hormonální léčba, gonadorelin

Abstract

Spermatogonia maturation is put in relation to postnatal minipuberty. Overall neoadjuvant hormonal therapy or adjuvant therapy according to testicular biopsy has been recommended in patients indicated for surgery. However, association with course of minipuberty, with anatomical has not been studied in these patients. The study aims to relate minipuberty to testicular descent, its anatomy and genetic changes, to determine possible effect of hormonal treatment on testicular descent, hormonal levels and anatomical anomalies, and possible impact of hormones from mother's milk. Infants will be closely monitored starting 3 months of age and milk of breast-feeding mothers examined. Boys indicated for surgery will be randomly assigned directly to surgery or pre-treated with LHRH analogue. An infant control group without cryptorchidism examined during minipuberty will be created. Follow-up until puberty will be emphasized. Acquired data will determine criteria for hormonal therapy instead of invasive and potentially harmful biopsy, and become pilot data for a long-term multicentric study

Keywords: minipuberty, cryptorchidism, infertility, hormonal treatment, gonadorelin

Seznam použitých zkratek

SRY	sex-determining region Y
TDF	testis determining factoru
AMH	antimülleriánský hormon
MIS	Müllerian inhibiting substance
INSL3	Insulin-like hormone
LH	luteinizační hormon
hCG	lidský choriový gonadotropin
FSH	folikuly stimulační hormon
HPG	hypotalamo-hypofyzo-gonadální
GnRH	gonadotropní hormon
HIR	high infertility risk group
LIR	low infertility risk group
TGF-β	transforming growth factor β
OR	odds ratio
Piwi	P-element-induced wimpy (testis)
CT	počítačová tomografie
MRI	magnetická rezonance
ESPU	European society fo paediatric urology
CNS	centrální nervový systém
SPL	stretched penile lenght
ASD	anoskrotální distance
CVL	Centrální výzkumná laboratoř
SHBG	Sex-hormone binding globuline

1. Vývoj a sestup varlete

1.1. Sestup varlete

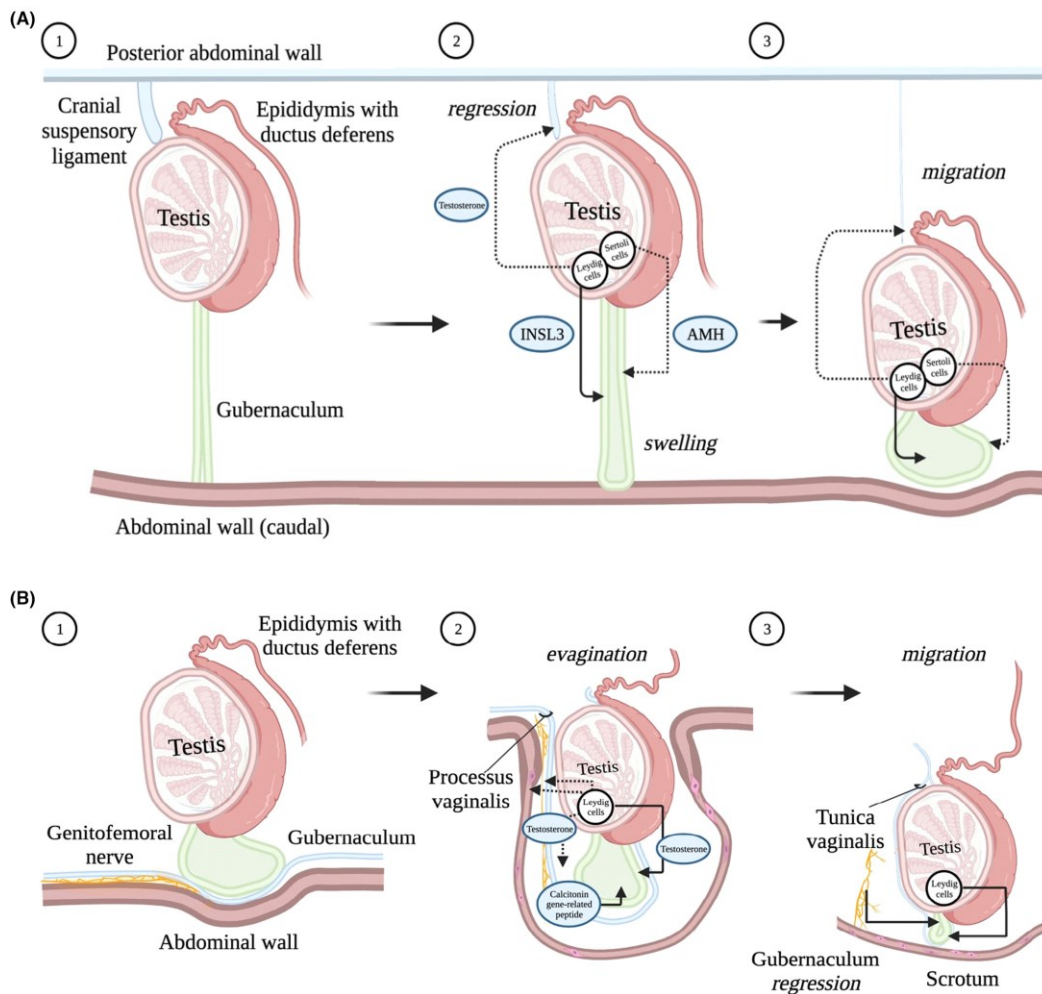
Základem pro vývoj varlete je genitální lišta lokalizovaná v blízkosti mesonephros. Expresí SRY (sex-determining region Y) a sekrecí testis determining factoru (TDF) po 41.dnu vývoje plodu dochází k determinaci varlat z indiferentní gonády. Mezodermový epitel se diferencuje v Sertoliho buňky, které postupně s gonocyty a myoepitelovými prekurzorovými buňkami formují epitel testikulárních tubulů a rete testis. Důležitou funkcí Sertoliho buněk je sekrece antimülleriánského hormonu (AMH, též MIS – Müllerian inhibiting substance), díky kterému

dochází k regresi paramezonefrotického ductu (ductus Mülleri) v prvním trimestru vývoje mužského embrya. (Docimo S.G. et al. 2017, Kočvara R. et al. 2023)

Fetální Leydigovy buňky produkují androgeny, které jsou nezbytné pro indukci diferenciací vývodních cest a zevních pohlavních orgánů plodu. Dalším produktem fetálních Leydigových buněk je Insulin-like hormone 3 (INSL3). Stejně jako testosteron podléhá jeho produkce centrální stimulaci luteinizačním hormonem (LH), nicméně produkce je na této stimulaci méně závislá. INSL3 je součástí skupiny hormonů a růstových faktorů strukturálně podobných insulinu. Na základě studia buněčných tkání byl zjištěn nejvyšší efekt kombinace dihydrotestosteronu a INSL3 na fetální růst gubernákula. Zároveň je INSL3 nutný pro expresi androgenního receptoru v gubernákulu. Avšak souvislost poruchy sestupu varlete s mutací pro INSL3 je u člověka malá, protože příčina kryptorchizmu v poruše transabdominální fáze není častá. (Hutson J.M. et al. 2015, Hutson J.M. et al. 2016). Další důležitou součástí stimulace funkce Leydigových buněk je placentární lidský choriový gonadotropin (hCG), jehož hodnota dosahuje maxima současně s počtem Leydigových buněk a hladinou testosteronu ve 13. týdnu gestace. (Docimo S.G. et al. 2017)

Vývoj zárodečných buněk probíhá současně s ostatními podpůrnými buňkami tkáně varlete v oblasti genitální lišty nejprve v podobě primordiálních zárodečných buněk, následně již jako stadium gonocytů. Ty tvoří fetální pool zárodečných buněk.

Samotný sestup varlete je v prenatální fázi dělen na fázi abdominální a fázi ingvinoskrotální. Varlata jsou v období 10-15 týdnů gestace v relativní blízkosti ingvinálního kanálu, což je podpořeno jejich růstem a významným postupným otokem gubernákula. Dochází v něm k množení extracelulární matrix a ukládání glykosaminoglykanů a kyseliny hyaluronové, čímž se stává zduřelým. Gubernákulum je jedním koncem přichyceno k varleti a druhým k přední břišní stěně, pozice varlete tím zůstává pevně ukotvená v průběhu růstu plodu. Jak bylo popsáno výše, hormonálně se na zvětšení objemu gubernákula podílí INSL 3. Samotný objem gubernákula způsobuje dilataci tříselného kanálu. Současně dochází k involuci tzv. kraniálního suspensorního ligamenta, což umožní další kaudální posun varlete. Po dokončení této první fáze sestupu je až do 25. týdne gravidity klidové období. Po něm dochází k fázi ingvinoskrotální. Za důležitou součást této fáze je považován processus vaginalis testis, který se vytváří podél gubernákula. Tato herniace varlete s výčlipkou peritonea podporuje teorii vyššího výskytu kryptorchizmu u dětí s defekty břišní stěny a s tím spojeným nízkým intraabdominálním tlakem. Během druhé fáze sestupu je díky zkrácení gubernákula varle protaženo skrz tříselný kanál a pevně uchyceno ve skrotu. (Hutson J. M. et al. 2013)



Obr. 1, Mechanismus sestupu varlete a hormonální vlivy; (Hildorf S. E. 2022)

Souvislost kojení a postnatálního vlivu na sestup varlete není dostatečně v literatuře popsána. Práce se často zmiňují o podílu tzv. endokrinních disruptorů obsažených v mateřském mléce (pesticidy, polybromované bifenylly, ftaláty, polychlorované bifenylly a dioxiny), které mohou negativně ovlivňovat vlastní hormonální osu dítěte. Nicméně měření v mateřském mléce slouží spíše jako marker možné aktivity těchto látek v průběhu těhotenství, která následně vede k vrozenému kryptorchizmu (Daamgard I.N. et al. 2006, Collet B. et al. 2020, Krysiak-Baltyn K. et al. 2012). Vliv samotného kojení na postnatální sestup je pak udáván v negativním smyslu při nahrazení mateřského mléka náhradní výživou založenou na sójových preparátech, kdy je naopak při jejich užívání pozorován vznik získaného kryptorchizmu. (Barthold, J. S. et al. 2012)

1.2. Vývoj varlete

1.2.1. Prenatální vývoj varlete

Počet fetálních Sertoliho buněk se ve varleti zdvojnásobuje každé 2 týdny od 7.-19. týdne gestace. Během třetího trimestru rychlost jejich proliferace klesá, celkový počet dosahuje 130×10^6 na jedno varle při narození. Počet Leydigových buněk v během druhého trimestru roste exponenciálně a dosahuje maxima 2×10^6 v 18. týdnu gravidity. Poté se počet Leydigových buněk u lidského plodu snižuje až do narození prostřednictvím procesu dediferenciace nebo degenerace. Počet zárodečných buněk exponenciálně narůstá od začátku vývoje varlete až do konce druhého trimestru, nejrychlejší nárůst počtu je mezi 6.-10. týdnem těhotenství. Důvod pro zpomalení po 10. týdnu není jasný, ale souvisí pravděpodobně s počtem Sertoliho buněk, jejichž proliferace v prvním trimestru probíhá výrazně pomaleji. Pokud je tedy závislost zárodečných buněk na Sertoliho buňkách u plodu stejná jako u dospělého jedince, pak je rychlost proliferace limitována absolutním počtem. Migrace gonocytů do bazální membrány a diferenciaci na spermatogoniální kmenové buňky a spermatogonie začíná na konci druhého trimestru. Diferenciace gonocytů na tyto kmenové buňky je nezbytná, neboť se udává, že buňky carcinoma in situ varlete vznikají z dysfunkčních či netransformovaných gonocytů. (O'Shaughnessy P. J. 2014, Tien M. Y. et al. 2020)

1.2.2. Postnatální vývoj varlete

V souvislosti s hypofyzární produkcí gonadotropinů ve druhém až třetím měsíci po narození (minipuberta) dochází k druhé vlně diferenciaci Leydigových buněk. (Wein A. et al. 2016) V tomto období také obsahují semenotvorné kanálky vysoké množství zárodečných buněk. Přibližně polovinu z nich činí gonocyty a zbytek jsou fetální spermatogonie. Právě v souvislosti s hormonálními změnami v průběhu minipuberty (zvýšení hladin LH, FSH a testosteronu produkovaného Leydigovými buňkami) se minorita gonocytů přichycuje na basální membránu a diferencuje v adultní (Ad) spermatogonie, zatímco většina podléhá apoptóze, čímž se snižuje celkové množství zárodečných buněk. Současně je pool fetálních zárodečných buněk nahrazen Ad spermatogoniemi, které nakonec tvoří pool zárodečných buněk v dospělosti. Transformace a apoptóza zbytku gonocytů je kompletní do 6 měsíců věku, současně s poklesem hladiny gonadotropinů a testosteronu. Některé Ad spermatogonie vyžívají do tzv. bledých spermatogonií (Ap – adult pale), dochází také k maturaci Sertoliho buněk. Udává se, že postnatální proliferace Sertoliho buněk přímo koreluje se spermatogenní kapacitou v dospělosti.

Po skončení minipuberty dochází k regresi Leydigových buněk do jejich nezralého stavu, v němž setrvávají až do prepubertálního období, tomu odpovídají i nízké hladiny testosteronu. Do prepubertálního období dochází postupně téměř k zdvojnásobení objemu varlete proti kojeneckému věku. Aktivita Leydigových buněk zůstává nízká, zatímco nadále pokračuje sekrece AMH a Inhibinu B Sertoliho buňkami. Před dosažením objemu varlat přibližně 2ml dochází k poklesu hladiny AMH a současnému nárůstu Inhibinu B. Toto předchází nárůstu sérového testosteronu a jedná se tak o první známku začátku puberty. Vysoká citlivost Leydigových buněk k LH a související vysoká produkce testosteronu vedou k rychlé proliferaci zárodečných buněk. Sertoliho buňky jsou nyní v průběhu puberty vystřídány zárodečnými buňkami coby hlavní komponentou objemu varlete. Úrovní časně stimulace Leydigových buněk nejlépe odpovídá hodnota INSL3, přičemž hladiny Testosteronu se zvyšují s mírnou latencí. INSL3 postupně u stárnoucích mužů klesá, což reflektuje jeho význam na posouzení funkce Leydigových buněk. (Docimo S.G. et al. 2017)

2. Hypotalamo – hypofyzární osa dětí

2.1. Význam

Puberta je obdobím života, kdy dochází k maturaci dětského těla do dospělého schopného sexuální reprodukce. V této době dochází k významné aktivaci hypotalamo hypofyzární osy (zvýšená produkce gonadotropinů a pohlavních steroidních hormonů). Zatímco klasická puberta probíhá v adolescentním věku, první vzestup aktivity hypotalamo hypofyzární osy vrcholí v průběhu vývoje plodu přibližně před polovinou gestace, druhé období nazývané minipubertou má u chlapců svůj vrchol hormonální aktivity kolem 2.-3. měsíce. (Becker, M., & Hesse, V. 2020)

Hladiny secernovaných LH a FSH v průběhu vývoje plodu se liší v závislosti na pohlaví, hodnoty jsou v případě plodů mužského pohlaví nižší. Toto pravděpodobně souvisí s negativní zpětnou vazbou na základě vysokého vyššího množství fetálních testikulárních hormonů. (Beck-Peccoz, P. et al. 1991) Maskulinizace genitálu je během fetálního vývoje závislá na produkci testosteronu Leydigovými buňkami fetálních varlat a jeho akcí na cílové orgánové struktury. Během prvního trimestru dochází vlivem placentárního hCG k diferenciaci testikulárního mesenchymu v Leydigovy buňky a stimulaci produkce testosteronu přes aktivaci LH/CG receptorů na jejich povrchu. Mutace těchto receptorů mohou vést k poruchám virilizace a k související feminizaci zevního genitálu. Testosteron iniciuje vývoj mužských urogenitálních

struktur z Wolffových duktů jako je vas deferens, nadvarle a semenné vajíčky; vývoj prostaty, penisu a šourku je stimulován dihydrotestosteronem. Naopak AMH produkovaný v Sertolihových buňkách vede k regresi mülleriánských duktů a tím k omezení formace ženského vnitřního genitálu. (Lanciotti, L. et al. 2018)

Minipuberta představuje pohlavně specifické období přechodné aktivace hypotalamo-hypofyzární osy. U chlapců toto období trvá 6 měsíců, zatímco u dívek 2 roky. (Becker, M., & Hesse, V. 2020)

Zdá se, že význam minipuberty pro obě pohlaví není stejný. V případě dívčí minipuberty dochází vlivem aktivace hypotalamo-hypofyzární osy k růstu ovariálních folikulů a současnému nárůstu hladin Inhibinu B a AMH, ale hodnoty estradiolu mají u dívek v době minipuberty výraznou variabilitu od neměřitelných po srovnatelné se skutečnou pubertou. Na základě tohoto zjištění tak není jasné, zda steroidogeneze v kojeneckém a batolecím věku je jednotná a jaký je biologický efekt estrogenu v dětském věku. (Kuiri-Hänninen, T. et al. 2011) Naproti tomu fyziologický průběh minipuberty u chlapců tuto variabilitu nevykazuje.

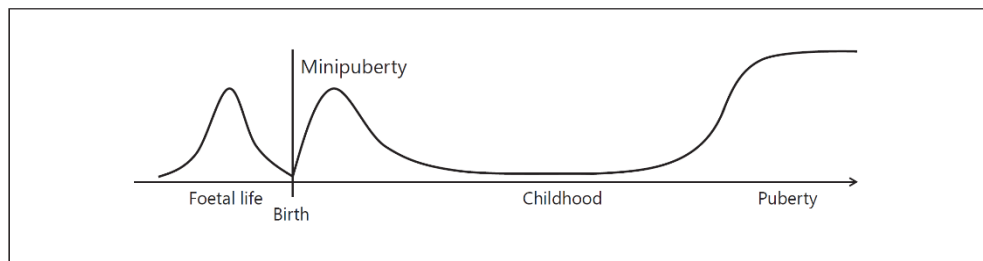
Odlíšný průběh minipuberty je u předčasně narozených chlapců. Hladiny testosteronu a LH jsou významně vyšší. Naopak hodnota FSH je iniciálně po narození nižší než u donošených, ale už kolem 1 měsíce věku se dostává na dvojnásobek měřených hladin u donošených. Testikulární objem u skupiny nedonošených zůstává v absolutní hodnotě nižší než u hochů narozených v termínu, nicméně obě křivky růstu kopírují stejný trend. V případě délky penisu je dynamika růstu daleko strmější v případě předčasně narozených chlapců. (Kuiri-Hänninen, T. et al. 2011)

2.2. Aktivace hypotalamo-hypofyzo-gonadální osy

Celý proces aktivace prenatální hypotalamo-hypofyzo-gonadální (HPG) osy začíná už v průběhu 9. týdne gestace produkcí LH a FSH. Jejich hladiny jsou detekovatelné od 12. týdne těhotenství. Kolem 31. týdne podléhají stimulaci GnRH. Prenatálně je HPG osa též významně ovlivňována produkcí placentárních hormonů, kdy lidský choriový gonadotropin je analogem LH, který se váže na stejný receptor s podobným biologickým efektem. Placentou produkované estrogény a progesteron negativní zpětnou vazbou ovlivňují sekreci LH a FSH, což ve třetím trimestru díky zvýšení hladin mateřských hormonů vede k významnému poklesu LH a FSH v pupečnickové krvi zjištěné při porodu. Ukončení suprese mateřskými hormony vede po

narození k reaktivaci HPG osy (Obr. 2). Tato aktivace je patrná velmi časně jako minipuberta. Její význam nespočívá jen ve fenotypové maturaci zevního genitálu, má také výrazný vliv na neurobehaviorální vývoj jedince. (Lucaccioni, L. et al. 2021) Hodnoty testosteronu a fyzické znaky jeho předchozího působení na vývoj genitálu dobře predikovaly vztah k chlapceky typickému typu hry ve 3 a 4 letech věku. Z toho je vyvozováno na význam hladin testosteronu v průběhu minipuberty na budoucí pohlavně specifický model chování. (Hines, M. et al. 2016)

Obr. 2, Tři období aktivace hypotalamo-hypofyzo-gonadální osy: fetální, minipuberta, puberta (Kuirri-Hänninen, T. et al. 2014)



2.3. Průběh minipuberty

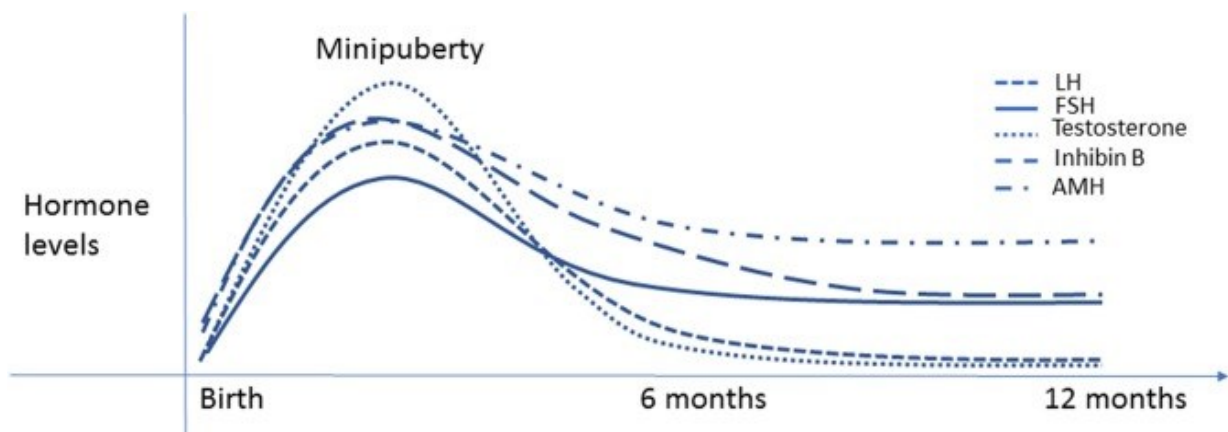
Pokles placentárních steroidů v prvních dnech po narození vede negativní zpětnou vazbou k ukončení suprese GnRH generátoru, a tím ke stimulaci HPG osy. Hladiny gonadotropinů opět začínají narůstat od 6.-10. dne po narození. U zdravých chlapců dosahují hladiny LH pubertálních hodnot v týdnu věku. Peak hladiny je pak možno pozorovat do 10. týdne věku. Od 4.-6. měsíce jsou hladiny opět rovny prepubertálním. (Schmidt, H., & Schwarz, H. P. 2000) Vyšší hodnoty LH je v tomto období možno pozorovat u chlapců, naopak hodnoty FSH jsou patrné u dívek.

Fetální testosteron je produkován Leydigovými buňkami po jejich diferenciaci na základě stimulace placentárním hCG. Následně až po 9. týdnů gestace se dostává pod kontrolu hypofyzárního LH. Fetální hladina testosteronu dosahuje svého maxima do 14. týdne gestace a hodnoty jsou srovnatelné s adultními (40-580 ng/dL). Po 20. týdnů gestace hladina testosteronu klesá až k porodu. Postnatálně jsou hladiny testosteronu v pupečnickové krvi minimální. Následně dochází v souvislosti s centrální stimulací k produkci testosteronu, maximální hodnoty je možno zachytit mezi 1. a 3. měsícem věku. Následně mezi 6. a 9. měsícem se

dostávají na prepubertální hodnoty. (Lanciotti, L. et al. 2018) Hormonální hladiny v průběhu prvních měsíců života jsou v obrázku 3, dynamika v obr. č. 4.

Age (months)	Inhibin B (pg/mL)	FSH (IU/L)	LH (IU/L)	Testosterone (nmol/L)
0 (cord blood)	140 (87–243)	0.70 (0.32–1.61)		
3	361 (254–513)	1.79 (0.90–2.93)	1.74 (0.90–2.64)	4.02 (1.83–6.54)
6	330 (204–427)	0.96 (0.29–1.78)	0.36 (0.16–1.07)	<0.23
9	262 (126–501)	0.45 (<0.06–1.03)	0.07 (<0.05–0.34)	<0.23
12	206 (94–383)	0.41 (0.13–1.60)	<0.05 (<0.05–0.21)	<0.23
15	166 (71–272)	0.56 (0.10–1.44)	<0.05 (<0.05–0.17)	<0.23
18	137 (96–245)	0.52 (0.19–1.28)	<0.05 (<0.05–0.18)	<0.23
21	136 (80–248)	0.66 (0.20–1.47)	<0.05 (<0.05–0.13)	<0.23
24	121 (71–204)	0.61 (0.11–1.07)	<0.05 (<0.05–0.17)	<0.23
5- to 10-yr-old	64 (<18–258)	0.57 (<0.06–1.84)	0.05 (<0.05–0.42)	<0.23 (<0.23–0.58)
Adult	165 (31–443)	4.03 (0.73–18)	3.31 (0.77–8.02)	17.03 (1.25–35.7)

Tab. 1, plazmatické hormonální hladiny; LH (luteinizační hormon), FSH (folikuly stimulační hormon); (Andersson A.M. et al. 1998)



Obr. 3, vývoj hormonálních hladin postnatálně; LH (luteinizační hormon), FSH (folikuly stimulační hormon), AMH (antimülleriánský hormon); (Kuiri-Hänninen T. 2019)

2.4. Spektrum vyšetřovaných hormonů

Jako obtížné se ukazuje hodnocení testikulární funkce u dětí pouze na základě vyšetření testosteronu a gonadotropinů. Jako další vhodné markery funkce Sertoliho a Leydigových buněk a hodnocení hypogonadismu se ukazují AMH a inhibin B. Jejich hormonální hladiny v případě hypogonadismu zůstávají relativně vysoké bez nutnosti stimulačních testů, tak jako je to v případě nízkých hladin testosteronu v prepubertálním období. (Docimo S.G. et al. 2017)

2.4.1. Gonadotropiny

Hladiny luteinizačního hormonu (LH) výrazněji stoupají od 2. týdne po porodu, dosahují maxima ve věku 1-2 měsíců, ve věku 6 měsíců se dostávají na prepubertální hodnoty. (Quigley C.A. 2002) Výsledkem vysokých hladin LH v období minipuberty je nárůst počtu Leydigových buněk ve tkáni varlete a tím i zvýšená sekrece testosteronu. Pozdější pokles LH následují ve stejném negativním trendu i hodnoty plazmatického testosteronu. Stejně jako LH, i FSH stoupá krátce po narození, nárůst je však pozvolnější a je doprovázen zvýšením hladiny Inhibinu B. Pokles FSH do prepubertálních hladin nastává až kolem 9. měsíce věku. Porucha testikulární funkce na úrovni Sertoliho buněk by se mohla manifestovat elevací FSH již ve věku několika měsíců. U chlapců s bilaterální anorchíí a normálním karyotypem je možné detekovat velmi vysoké hodnoty LH a FSH, zatímco hladiny Inhibinu B a testosteronu jsou nízké či neměřitelné. (Thorup J. et al. 2011) Význam FSH ve spermatogenezi je deklarován na animálním modelu – při nedostatku FSH se projeví inhibicí proliferace spermatogonií a jejich následné transformace ve spermatocyty. Naopak při FSH stimulaci dochází k nárůstu počtu spermatogonií. Prepubertální léčba FSH vede k nárůstu počtu Sertoliho buněk a iniciuje spermatogenezi včetně produkce B spermatogonií ve spermatocytech.

Absence sekrece gonadotropinů po hypofyzektomii nebo léčba antagonisty GnRH receptorů v dospělosti vede k zastavení spermatogeneze, za stejných podmínek je také pozorována regrese tubuli seminiferi, všechny tyto situace vedou k azoospermii. V případě ztráty sekrece LH či jeho biologické inaktivitě například pro mutaci receptorů sice neproběhne puberta, ale dojde k spontánnímu sestupu varlat. (Ramaswamy, S., & Weinbauer, G. F. 2015)

V literatuře je málo dostupných dat na hodnoty LH a FSH u kryptorchizmu. Původní práce Job et al. 1977 ukázala nedostatečnou stimulaci LH u skupiny chlapců s nesestouplým varletem po podání LHRH. Verkauskas, G. et al. 2016 prezentovali významně nižší hladiny LH u chlapců z tzv. High infertility risk group oproti těm z Low risk skupiny. Dělení do skupin podle rizika záviselo na výsledku biopsie varlete. Další práce stejného kolektivu vysvětluje vliv hormonálních změn, kdy pokles LH u chlapců s kryptorchizmem má mít za následek histologické změny ve tkáni varlat, redukci počtu Leydigových buněk a procesu maturace gonocytů v adultní spermatogonie. (Hadziselimović, F. et al. 1986).

2.4.2. Testosteron

Hladiny testosteronu v krvi novorozence začínají narůstat po prvním týdnu života. V období minipuberty dosahují až hodnot srovnatelných se samotnou pubertou. Kolem šestého měsíce věku se dostávají na hladinu prepubertálních hodnot. Medián hodnot testosteronu ve věku 3

měsíců je 4,02nmol/l, zatímco následně klesá až na hodnoty menší než 0,23 nmol/l. (Andersson A.M. et al. 1998). Množství testosteronu v krvi odpovídá počtu Leydigových buněk. Klinickým projevem elevace testosteronu je růst penisu.

Na základě výsledků studie publikované v roce 2022 (Scheutz Henriksen, L. et al. 2022) jsou hladiny testosteronu měřené ve věku 3 měsíců dobrým prediktorem budoucí kvality spermatu měřené v časně dospělosti. Soubor 259 chlapců, jejichž plazmatické hladiny testosteronu byly analyzovány ve věku kolem 3 měsíců, byl podle hodnoty testosteronu rozdělen do 3 skupin (tercily). Po 19 letech byla zhodnocena kvalita spermiogramu, přičemž se ukázalo, že kvalita ejakulátu přímo korelovala s hodnotou testosteronu podle tercilů.

Historicky je v dostupné literatuře možné nalézt několik původních článků popisujících nižší hladiny testosteronu u chlapců s nesestouplým varletem na tyto autory se většinou odkazují ostatní práce i z posledních let. (Gendrel D. et al 1980) popisují nižší hladiny LH i testosteronu u kryptorchizmu v porovnání se skupinou, v níž došlo ke spontánnímu sestupu. Job J. C. et al. 1987 ve své práci shrnují předchozí nálezy nízkého sérového testosteronu a LH u kryptorchiků ve srovnání s kontrolami. Nicméně tyto práce neposkytují přehled hormonálních hladin v období minipuberty.

2.4.3. AMH

Anti-mülleriánský hormon je glykoprotein ze skupiny transforming growth factor β (TGF- β) a je produkován výlučně Sertoliho buňkami. Exprese AMH začíná během tvorby semenotvorných tubulů a přetrvává zvýšená až do puberty. Exprese není závislá na gonadotropní stimulaci.

AMH má významný vliv na pohlavní diferenciaci plodu, jeho působením dochází u plodu mužského pohlaví k indukci regrese embryonálních Mülleriánských duktů. V případě poruchy tohoto mechanismu dochází k perzistenci Mülleriánských struktur a jedinci v rámci stejnojmenného syndromu mají dělohu, vejcovody a často intraabdominální uložená varlata. Souvislost s kryptorchizmem je v tomto případě související s absencí otoku, prosáknutí gubernákula a jeho zkrácení. Nicméně porucha sestupu varlat není u tohoto syndromu pravidlem, tedy vliv na gubernákulum se nezdá tolik významný. Ačkoliv vliv AMH na sestup tedy není tolik významný, je AMH považováno za dobrý marker funkce Sertoliho buněk. (Hutson J. M. et al. 2015) V rámci studie hladin hormonu u prepubertálních chlapců s kryptorchismem se prokázaly snížené hladiny, zejména pak u skupiny s bilaterálním

postižením, což odkazovalo na spojení s předpokládanou testikulární dysfunkcí u kryptorchizmu. (Grinson, R. P., et al. 2018) Ke stejným výsledkům došla porovnáním se zdravými kontrolami i další studie autorů Yamanaka J. et al 1991. Vyšetření subfertálních dospělých mužů prokázalo o 60% nižší hladiny AMH proti plně fertálním mužům. (Goulis, D. G. et al. 2008)

Na rozdíl od postpubertálních varlat, kde hlavní objem tvoří zárodečné buňky, jsou v prepubertálních varlatech nejčastěji zastoupené a zároveň hormonálně nejaktivnější Sertoliho buňky. Jejich aktivita je reprezentována vysokou hladinou AMH (mezi 1.-24. měsícem věku jsou hodnoty 55-320 ng/ml), která trvá právě až do období puberty (30-200 ng/ml), následně počíná pozvolně klesat až k hodnotám v dospělosti (3-18 ng/ml). (Edelstein, N. Y. et al. 2016)

Proliferace Sertoliho buněk je závislá na FSH, který je zvýšený během fyziologické aktivace hypotalamo-hypofyzo-testikulární osy v době minipuberty. Touto stimulací dochází k významnému zvětšení objemu varlat. Pokračující sekrecí FSH dochází k dalšímu nárůstu hladin AMH.

V případě centrálního hypogonadotropního hypogonadismu je v důsledku nízké fetální a časné postnatální stimulace FSH snížena exprese AMH, tedy jeho bazální hodnota je nízká, ale výrazně narůstá po aplikaci FSH, čehož je následně využíváno v monitoraci efektu léčby. Na druhou stranu ani normální hodnoty AMH tuto diagnózu nevylučují. V klinickém obrazu je přítomen kryptorchismus, mikropenis, mikroorchidismus. (Young J. et al. 2005)

Jak již bylo zmíněno, lze z hodnot AMH usuzovat na testikulární funkci, avšak ne u všech chlapců postižených kryptorchizmem je zhoršená funkce Sertoliho buněk, která by se projevila právě sníženou hladinou AMH. Hypotézu poruchy funkce Sertoliho buněk potvrzuje ještě výraznější pokles hodnot proti zdravým chlapcům patrný u bilaterálně nesestouplých varlat. V případě bilaterální anorchie je hladina neměřitelná. (Grinson, R. P., et al. 2018) V případě solitárního varlete je pozorováno kompenzatorní zvětšení a nerovnováha ve funkci Leydigových a Sertoliho buněk. Zatímco množství Leydigových buněk je výrazně zvýšené, nízké hodnoty AMH a zvýšené FSH naznačují nedostatečnou funkci Sertoliho buněk. (Edelstein, N. Y. et al. 2016)

2.4.4. Inhibin B

Dalším vyšetřovaným hormonem ke zjištění stavu funkce testikulární tkáně je Inhibin B. Jedná se o gonadální glykoproteinový hormon ze skupiny beta růstových faktorů, který má významnou regulativní funkci hypotalamo-hypofyzo-testikulární osy v průběhu puberty.

V lidském séru se vyskytuje několik reaktivních forem inhibinu, biologicky aktivní je dimer inhibinu složený z podjednotky alfa (Inhibin A) a beta (Inhibin B).

Zatímco prepubertálně je hormon produkován výhradně Sertoliho buňkami, postpubertálně je tvořen i zárodečnými buňkami.

Během puberty je zřejmý nárůst hladiny Inhibinu B v souvislosti se zvýšenou produkcí FSH.

Hodnoty Inhibinu B nejsou ovlivněny sekrecí androgenů a mají přímý vztah k funkci Sertoliho buněk bez závislosti na stavu jejich maturace.

Plazmatické hladiny Inhibinu B jsou často sníženy u hochů s nesestouplým varletem a u mužů s anamnézou kryptorchizmu uni i bilaterálního. (Esposito S. et al. 2018) Snížená sekrece se považuje za obraz zhoršení funkce zárodečného epitelu, hodnoty jsou přímo úměrné počtu spermatogonií.

U kryptorchizmu je též pozorován nízký poměr Inhibinu B/FSH, hladiny FSH jsou často zvýšené u lehčích forem kryptorchizmu a u později spontánně sestouplých varlat, což naznačuje možnou zhoršenou testikulární funkci i u těchto jedinců. (Suomi A.-M. et al. 2006)

V případě hypogonadotropního hypogonadismu jsou pozorovány nízké hladiny Inhibinu B a též sníženy FSH i po provedené bilaterální orchidopexi.

Zdá se, že Inhibin B by mohl být efektivnějším nástrojem k dispenzarizaci chlapců s kryptorchizmem v průběhu růstu a dospívání, než je AMH, které je spojeno především s funkcí nezralých Sertoliho buněk a sekrece je v průběhu puberty inhibována androgeny prostřednictvím androgenního receptoru zralých Sertoliho buněk. (Esposito S. et al. 2018)

Porovnáním hladin Inhibinu B u chlapců s kryptorchizmem byl zjištěn významný rozdíl v hladinách hormonu u bilaterálně nesestouplých varlat ve skupině, kde jedno varle nebylo hmatné, proti skupině, kde byla hmatná obě nesestouplá varlata, je tedy popisováno výrazné snížení hladin Inhibinu u skupiny těžších případů bilaterálního kryptorchizmu. (Christiansen, P. et al. 2002) K podobnému výsledku došli i další autoři, kteří porovnáním i dalších hormonálních hladin u bilaterálně nesestouplých varlat a skupiny s atrofií/agenezí potvrzují významný rozdíl hodnot Inhibinu B, FSH a LH. Na rozdíl od tohoto zjištění se stejný trend nepotvrzuje porovnáním hodnot u unilaterálního kryptorchizmu proti jednostranné atrofií/agenezí, kde se předpokládá kompenzace druhostranným zdravým varletem. (Thorup J. et al. 2015)

Při srovnání bilaterálního kryptorchizmu, kdy jsou varlata hmatná na úrovni anulus inguinalis superficialis, s unilaterálním kryptorchizmem, hladiny se vzájemně nevyrovnají. Všechna tato tvrzení potvrzují závažnost bilaterálního kryptorchizmu ve vztahu k funkci testikulární tkáně. Je také popisován odpovídající pozitivní vztah mezi počtem adultních spermatogonií a hodnotou Inhibinu B. To je dokládáno hodnotami Inhibinu B při znalosti testikulární biopsie. Zdá se, že vedle LH je také Inhibin B nutný pro správnou maturaci v adultní spermatogonie. (Esposito S. et al. 2018)

Fyziologické hladiny Inhibinu B dosáhnou svého maxima přibližně ve věku 3 měsíců (medián 360 pg/ml) s vrcholící minipubertou, následně klesají až k hodnotám kolem 121 pg/ml ve věku přibližně dvou let. Prepubertální hodnoty se pohybují kolem 64 pg/ml, v dospělosti je medián fyziologické hodnoty Inhibinu B 165 pg/ml. (Andersson A.M. et al. 1997; Andersson A.M. et al. 1998) Na hladinách plazmatického Inhibinu je patrná aktivace hypotalamo–hypofyzo-testikulární osy a tím i zvýšená proliferace Sertoliho buněk.

Na základě opakovaných měření Inhibinu B pooperačně byl prokázán jeho významný nárůst u 32 % operovaných jednostranně nesestouplých varlat. (Thorup, J. et al 2015) Předpokládá se, že vyšetření sérového Inhibinu B po provedené orchiopexi by mohlo být i dobrým prediktivním vodítkem pro budoucí testikulární funkci a fertilitu. (Esposito S. et al. 2018)

3. Kryptorchizmus

3.1. Úvod

Kryptorchizmus je definován jako patologický stav, kdy je varle uloženo mimo šourek i při relaxaci břišních svalů.

Jedná se o jednu z nejrozšířenějších vrozených vad mužského genitálu s četností 3-4% donošených chlapců a dokonce 45% předčasně narozených. Typické je postižení jednostranné, bilaterální nález nacházíme asi u 15%. Mezi rizikové faktory se zařazuje kouření matky v graviditě a také hormonální (endokrinní) disruptory v prostředí. Perinatálními rizikovými faktory jsou potom nízká porodní hmotnost, prematurita a růstová restrikce pro daný gestační věk. Familiárně je také vyšší riziko pro chlapce, jejichž otec či bratr měli nesestouplé varle. (Gurney J. K. et al. 2017)

Procentuální pravděpodobnost postnatálního spontánního sestupu varlete se popisuje mezi 24-67 % a to nejčastěji ve věku do tří měsíců, pravděpodobnost sestupu po 6 měsíci věku je minimální, úspěšnost je v tomto období jen 6,9 %. (Wenzler D. L. et al. 2004)

Budoucí rizika související s nesestouplým varletem jsou především spojená se sníženou budoucí fertilitou jedince a možným rizikem rozvoje nádoru varlete. Významně zvýšené riziko rozvoje zhoubného novotvaru varlete je především u chlapců, u nichž se kryptorchizmus začal léčit až po nástupu puberty.

3.1.1. Nesestouplé varle a riziko vzniku nádoru varlete

Zatímco významnější studium rizik kryptorchizmu pro budoucí zhoršení fertility je až otázkou posledních desetiletí, riziko rozvoje maligního nádoru varlete je dlouho známé a zkoumané. Proti zdravé populaci je relativního riziko přibližně 5-10x vyšší. Důležitou roli v riziku vzniku nádoru u populace mužů po léčbě kryptorchizmu hraje věk v době operace. Z rozsáhlého souboru (Pettersson A. et al. 2007) více než 16tis. pacientů plyne hranice pro dvojnásobné zvýšení rizika kolem 13 let věku, což odpovídá proběhlé pubertě jedince. Na základě dánské epidemiologické studie z roku 2001 na 514 případech nádoru varlete v porovnání s 720 kontrolami se potvrdil trend snížení rizika s časnějším naplánováním operace. Pro skupinu, která podstoupila orchidopexi ve věku 0-9 let, bylo odds ratio (OR) pro pozdější rozvoj nádoru varlete 1,1; skupina 10-14 let v době operace má OR 2,9; mladí muži operovaní po 15. roce mají OR 3,5; dospělí s perzistujícím kryptorchizmem mají OR 14,4. Z výsledků této práce pak plyne téměř dvojnásobné riziko vzniku nádoru u bilaterálně nesestouplého varlete v porovnání s unilaterálním nálezem. (Thorup J., & Cortes D. 2019)

Typickým nádorem asociovaným s nesestouplým varletem je seminom. Předpokládá se, že klasický seminom se vyvíjí z prekursorové léze, carcinoma in situ, tzv. intratubulární neoplasie, jejíž základ pochází z primordiální zárodečné buňky a k jeho proliferaci dochází až pod vlivem působení gonadotropinů a/nebo testikulárních steroidů. Naproti tomu spermatocytární seminom by měl mít původ v diferencujících se spermatogoniích. Na základě animálních modelů s genetickým testováním se ukazuje deregulace růstových faktorů pro obnovu zárodečných buněk, která vede ke vzniku nádoru. (Ferguson L., & Agoulnik A. I. 2013) V případě jedinců operovaných pro nesestouplé varle před nástupem puberty není nutná pravidelná dispenzarizace v rámci prevence vzniku nádoru varlete. Ačkoliv je riziko vzniku nádoru u mužů operovaných

až po proběhlé pubertě vyšší, není důvod provádět preventivní orchiektomii či pravidelná sonografická vyšetření, pokud je varle dobře hmatné při pravidelném samovyšetření.

3.1.2. Patogeneze infertility

Je známo, že ani včasné chirurgické řešení nemusí být zárukou budoucí dostatečné fertility pro určitou skupinu chlapců s nesestouplým varletem, zejména u oboustranného kryptorchizmu. Nižší hodnoty ve spermioqramu dospělých mužů s jednostrannou retencí varlete jsou nacházeny u 18-43 %, nicméně paternita zůstává téměř bez změny. U mužů s bilaterálním kryptorchizmem už je paternita významně snížena a změny ve spermioqramu jsou přítomny u 75-100 %. (Canavese, F. et al. 2009)

Je známo, že vlivem expozice varlete zvýšené teplotě, která působí na nesestouplé varle, dochází ke snížení jeho hmotnosti již po několikadenní expozici. Rovněž dochází k histologickým změnám ve smyslu počtu spermatogonií, není ale pozorována negativní změna v hladině testosteronu. (Setchell B. P. 1998) Tento obecně akceptovaný koncept teorie rozvoje subfertility či infertility vlivem expozice varlete zvýšené teplotě je ale na základě studia epigenetických změn postupně opouštěn. Navíc tato teorie nevysvětluje pokles ve spermioqramu u jednostranného kryptorchizmu, když jedno varle je udržováno v normálních podmínkách. V poslední době je infertilita u kryptorchizmu spojována s nedostatečnou expresí genů v rámci tzv. Piwi (P-element-induced wimpy testis) regulační cesty. P elementy, proteiny jsou součástí cytoplazmy a účastní se regulace Piwi mechanismů v ovlivnění transposonů zárodečných buněk. Uvádí se porucha exprese genů v této regulační cestě související s chybným průběhem minipuberty. V této souvislosti je pak popisována vysoká exprese transposonů v důsledky chybné minipuberty vedoucí k následné infertilitě u jedinců v tzv. high infertility rate skupině. Důležitou ochrannou roli ve smyslu tlumení efektu transposonů hraje právě správný průběh minipuberty. Selhání obou mechanismů vede k azoospermii. (Hadziselimovic, F. et al. 2011, Hadziselimovic, F. et al. 2015)

3.2. Klasifikace

Pro klasifikaci je důležitý klinický nález. Klinicky jsou nesestouplá varlata klasifikována na hmatná (80 %) a nehmatná (20 %), toto dělení má smysl s ohledem na přístup při plánovaném operačním řešení. Ačkoliv je ambulantní vyšetření v tzv. tureckém sedu relativně přesné, je

nutné pohmatové vyšetření při nehmatném nálezu zopakovat v celkové anestezii v rámci operačního výkonu, kdy se může situace změnit kompletní relaxací musculus cremaster.

Anatomické dělení se zakládá na poloze varlete, jeho retence může být kdekoliv v očekávané dráze sestupu (abdominální, ingvinální, supraskrotální poloha), mimo správnou dráhu sestupu (ektopie supraingvinální, perineální, femorální, suprapubickou) nebo může varle chybět úplně (anorchie). V takovém případě nacházíme slepě zakončené vnitřní testikulární cévy, podkladem je zřejmě ischemická cévní příhoda, která proběhla pravděpodobně jako prenatální torze semenného provazce. Často bývá chybně za kryptorchizmus zaměňováno retraktilní varle, které je sice správně uložené v šourku, ale zvýšenou aktivitou musculus cremaster se nachází ve vysoké skrotální poloze. Takové varle je možné při klinickém vyšetření manipulací stáhnout do šourku. Retraktilní varle může být až ve 30 % postiženo rizikem ascenzu. (Agarwal, P. K. et al. 2006)

3.3. Diagnostika

V rámci diagnostiky je nutné odlišit syndromický kryptorchizmus (např. Prune Belly nebo Kallmann syndrom) a vyloučit též jiné možné příčiny kryptorchizmu, jako jsou například předchozí operace v třísle. Zvláštním důvodem pro zvýšenou pozornost je současná přítomnost hypospadie a nehmatných varlat. Při tomto nálezu musí lékař vyloučit možnou DSD (Disorders of sexual development)

Nezbytné je fyzikální vyšetření kojence v tzv. tureckém sedu (frog leg position), při kterém dochází k utlumení kremasterového reflexu a bimanuálně je možné při tomto manévru varle stlačit do šourku, zároveň je možné vyloučit retraktilní varle. Též je možno palpací predilekčních míst (perineum, nad ingvinálním kanálem a femorálně) zjistit ektopii varlete. V případě negativního palpačního nálezu je jedinou další vyšetřovací metodou ultrasonografie, která je snadno dostupná a neinvazivní, bez radiační zátěže. Může být velmi přínosná zejména u chlapců se silnější tukovou vrstvou v oblasti tříselného kanálu, kdy je palpace obtížná, dokáže také odhalit varle retinované v ingvinálním kanále. Při sonografickém nálezu hypertrofie kontralaterálního varlete (objem >2ml, či délce >16mm) je téměř 90 % pravděpodobnost chybějící funkční tkáně nehmatného varlete. (Hodhod, A. et al. 2016) Metody počítačové tomografie (CT) a magnetické rezonance (MRI) mají sice vysokou senzitivitu, ale vyžadují celkovou anestezii dítěte a v případě CT mají též vysokou radiační zátěž, proto nejsou doporučeny (Radmayr, C. et al. 2016). V rámci vyšetřovacích metod je důležité zmínit i diagnosticko-terapeutickou roli laparoskopie, která definitivně odhalí dřívější nejasnosti. U pacientů s bilaterálně nehmatným varletem je v diagnostickém procesu před operačním řešením

zařazen hCG stimulační test, lidský choriový gonadotropin je totiž strukturálně podobný LH a 4-5 dní po jeho aplikaci by měla být patrna hormonální odpověď v podobě elevace sérového testosteronu, která svědčí pro přítomnost Leydigových buněk. Stanovit se dá i hladina Inhibinu B jakožto markeru funkce Sertoliho buněk, nicméně ani negativní výsledek těchto testů není jasným důkazem o agenezi či atrofii.

3.4. Léčba

3.4.1. Terapeutické možnosti

Až u dvou třetin chlapců s kryptorchizmem je šance na spontánní sestup varlete do 6 měsíců věku. Tato možnost se dává do souvislosti s hormonálními změnami v rámci minipuberty. (Lanciotti, L. et al. 2018) S tímto souvisí dřívější hypotéza podávání hormonálně stimulující léčby hCG nebo GnRH s cílem dosažení spontánního sestupu varlete. Na základě hodnocení dat je dle některých metaanalýz efekt hormonální stimulace podávané za tímto účelem jen kolem 20 % (Ritzén, E. M. et al. 2008), nicméně toto je zpochybňováno pro hodnocení skupin nížce selektovaných pacientů, kdy se úspěšnost může lišit v závislosti na poloze varlete nebo na chybné diagnostice retraktilního varlete. Hadžiselimović popisuje úspěšný efekt léčby z celkem pěti studií až 56 % (Hadžiselimović F. 2019). Každopádně hormonální stimulace s cílem spontánního sestupu není dle současných guidelines Evropské společnosti pro dětskou urologii (ESPU) doporučena. (Radmayr, C. et al. 2016)

Základem léčby nesestouplého varlete je chirurgické řešení. S ohledem na klinický nález je výkon plánován jinak u hmatného a nehmatného varlete. V případě trvajících nehmatného nálezu v celkové anestezii je nutno výkon zahájit diagnostickou laparoskopií pro možnou intraabdominální polohu varlete nebo anorchii; někteří se přiklánějí k primárním revizi inguinálního kanálu. Běžný přístup k orchiopexi je z ingviny, kdy je nutná dostatečná funikulolýza (přerušení m. cremaster a processus vaginalis testis) a následně fixace varlete v podkožní kapse šourku dle Petřivalského-Schumachera. V případě nálezu atrofického či těžce hypoplastického varlete je indikována orchiektomie. Při nálezu krátkých testikulárních arterií během diagnostické laparoskopie a tím pádem nemožného stažení varlete bez tahu do skrota je indikovaná dvoudobá Fowler-Stephensova operace s přetnutím vnitřních testikulárních cév. Podmínkou pro tento postup je přítomnost deferenciálních cév spojených s varletem. Při dvoudobém postupu je menší riziko atrofií varlete ve srovnání se stejným postupem v jedné době.

3.4.2. Načasování léčby

Dle doporučení Evropské společnosti pro dětskou urologii (Radmayr, C. et al. 2016) by měla orchidopexie pro nesestoupilé varle proběhnout nejpozději do 12-18 měsíců věku. Někteří autoři (Thorup, J., & Cortes, D. 2019) dokonce uvádějí, že není důvod odkládat operaci nesyndromického kryptorchizmu po 6. měsíci věku, aby se předešlo rizikům spojeným se sníženou fertilitou. Tento názor je však hraniční s ohledem na potenciál spontánního sestupu do 6 měsíců, a především na logistiku pacientů, která souvisí s odesláním pacientů od praktických pediatriů a současně s čekacími listinami chirurgických pracovišť. Zároveň je ale nutno počítat s vyšším rizikem komplikací operace při snižování věkové hranice a výkon vyžaduje zkušenosti operátora. (Thorup, J. et al. 2011) Naopak provedení orchidopexie ve vyšším věku je pro vývoj varlete vyloženě znevýhodňující. V souvislosti s histologickým vyšetřením varlete skupin operovaných v 9 měsících a ve 3 letech byl prokázán negativní vliv na varle při vyšším věku v době operace. (Kollin, C. et al. 2012)

3.4.3. Biopsie varlete

Důležitým prediktivním ukazatelem stavu testikulární tkáně je počet spermatogonií na tubulus v rámci histologického vyšetření. Mnoho autorů opírá diagnostiku tzv. high infertility risk group právě o poměr zárodečných buněk na tubulus. (Hildorf, S. et al. 2019, Hadziselimovic F. 2017) Biopsie jsou tak rutinní součástí jejich orchidopexie. Existuje dokonce práce, kde byla provedena rebiopsie po podané hormonální adjuvantní léčbě u starších chlapců do 6 let s bilaterálním kryptorchizmem, která prokázala pozitivní vliv adjuvance. (Vincel, B. et al. 2018)

3.4.4. Kryoprezervace

Na rozdíl od prosté biopsie varlete sloužící k diagnostice předpokládané budoucí fertilitní funkce na základě stanovení počtů jednotlivých buněk, jsou k dispozici již i metody související s odběrem testikulární tkáně určené ke kryoprezervaci. Ty jsou pochopitelně cílem zkoumání u pacientů před plánovanou onkologickou léčbou, ale též jsou předmětem zájmu jako možnost zachování fertility u chlapců léčených pro kryptorchizmus. Hypotéza pro tuto terapeutickou možnost je založena na histologických nálezech z biopsií varlat provedených během orchidopexie. V případě rizikových jedinců i přes provedený operační výkon nadále klesá množství zárodečných buněk. Proto se nabízí možnost tyto buňky zachovat a při budoucí infertilitě je autologně transplantovat. Nicméně tyto metody jsou stále součástí preklinického výzkumu. (Gul, M. et al. 2020; Jensen, C. F. S. et al. 2022; Thorup J. et al. 2018)

3.4.5. Hormonální neo/adjuvantní léčba

I přes včasnou chirurgickou léčbu je popisováno zvýšené riziko budoucí infertility způsobené nedostatečným vyžíváním spermatogonií u 20–25 % chlapců operovaných pro nesestouplé varle. (Hildorf, S. et al. 2020) Proto je navrhována hormonální léčba ve smyslu neoadjuvance či adjuvance k operačnímu řešení. Současné doporučené postupy ji připouští v případě bilaterálně nesestouplého varlete (Radmayr, C. et al. 2016), ale řada autorů ji navrhuje i u jednostranného kryptorchizmu. (Chua, M. E. et al. 2014) Otázkou však zůstává, zda by léčba měla být podávána plošně či jen určité selektované skupině. (Thorup J. et al. 2018) Navíc je důležitým cílem zjistit, podle jakých kritérií tuto skupinu vybrat.

3.4.5.1. Hormonální preparáty k léčbě

Historicky byl pro léčbu kryptorchizmu používán lidský choriový gonadotropin. Po jeho podání dojde do několika dnů k elevaci sérového testosteronu, což by mělo způsobit ochranu testikulárních zárodečných buněk. Nevýhodou hCG jsou nežádoucí účinky související s možným intratestikulárním krvácením, případně apoptózou zárodečných buněk, které postupně v dospělosti vedou k zmenšení testikulárního objemu. (Dunkel, L. et al. 1997).

Naproti tomu léčba GnRH nevykazuje žádné vedlejší nežádoucí účinky a zdá se být bezpečnou. (Fiala V. et al. 2022; Jallouli M. et al 2009; Schwenter et al. 2005) Navíc díky této léčbě se daří korigovat chybně probíhající minipubertu. K dispozici jsou preparáty ve formě nosních kapek. Doporučená denní dávka Gonadorelinu (Kryptocur®) je 1,2mg/den podávaná po dobu 4 týdnů. Podání je možné předoperačně, nicméně například Thorup et al. gonadorelin podávali v redukované dávce 0,4mg každý druhý den po dobu 16 týdnů. (Thorup J. et al. 2018)

Další variantou je Buserelin, který je analogem hypotalamického gonadorelinu, v současné době je však užíván spíše v onkologických indikacích, nicméně existují práce popisující jeho efekt v indikaci kryptorchizmu. Neoadjuvantně Vincel B. et al. 2018 u bilaterálního kryptorchizmu v dávce 10µg každý druhý den po dobu 6 měsíců intranasálně dosáhl zlepšení histologického nálezu počtu zárodečných buněk na tubulus při orchidopexi; v adjuvanci po orchidopexi jej v dávce 20µg/den po dobu 28 dnů podávali Zivkovic et al. intranasálně v kombinaci s 1500IU hCG intramuskulárně (Zivkovic, D., & Hadziselimovic, F. 2009).

4. Hypotézy a cíle práce

Kryptorchizmus (nepřítomnost varlete v šourku) představuje nejčastější vrozenou endokrinní vadu mužských gonád, která postihuje 3-4 % donošených chlapců. Léčbu vyžaduje třetina z nich, u kterých nedojde ke spontánnímu sestupu v prvních 6 měsících života. Standardní léčbou

je časná orchidopexie, která vede ke snížení onkologického rizika pro pacienta a snížení rizika torze semenného provazce. Avšak její vliv na ochranu budoucí fertility není vždy dostatečný. Je známo, že u jednostranného kryptorchizmu je sice snížena fertilita, ale paternita je postižena jen asi v 10 % případů. U bilaterálního kryptorchizmu je situace výrazně horší včetně významně snížené paternity.

Přibližně od roku života jsou u nesestouplého varlete zjišťovány změny počtu zárodečných buněk. Již o několik měsíců dříve je patrné opoždění ve vyzrání fetálních spermatogonií v tzv. adultní spermatogonie, z nichž vychází budoucí spermatogeneze. Proto se doporučuje začít s léčbou kryptorchizmu již po 6 měsících života a léčbu dokončit do roka, nejpozději do 18 měsíců života. Hormonální léčba kryptorchizmu za účelem dosažení sestupu varlete je málo úspěšná a rutinně se neprovádí.

V současné době je možné predikovat budoucí fertilitu pouze na základě provedené biopsie v rámci plánované orchiepie. Objevují se stále častěji práce, které obhajují podávání LHRH analog v návaznosti na výsledek biopsie. Předpokládá se současná endokrinopatie, která zamezuje správné maturaci spermatogonií. Možností stanovení kritérií pro zařazení kandidátů do tzv. skupiny s vysokým rizikem infertility (HIR – High infertility risk) se zabývalo vícero prací. Autoři Verkauskas G. et al. 2019 stanovili jako kritérium výsledek bioptického nálezu, konkrétně počet adultních spermatogonií na jeden řez tubulem nižší než 0,01 a zároveň celkový počet zárodečných buněk na jeden tubulus nižší než 0,2. Jelikož během unilaterální orchidopexie byla provedena biopsie i kontralaterálního varlete, bylo možné stanovit míru poškození na obou varletech. Autoři udávají schopnost s vysokou pravděpodobností predikovat výsledek histologie sestouplého varlete na základě korelace poměru počtu spermatogonií na tubulus a výsledku histologie operovaného nesestouplého varlete. Proto byla vyslovena teze na bilaterální chorobu u jednostranného kryptorchizmu danou endokrinopatií s patologickým průběhem minipuberty. Statisticky je počet HIR ve skupině unilaterálního kryptorchizmu přibližně 20 %.

Ačkoliv je popisováno, že biopsie varlete je před průběhem puberty bezpečná s ohledem na tvorbu antispermatických protilátek, není jisté, zda je odběr jednoho vzorku dostatečně reprezentativní (Faure A. et al. 2016). Dalším problémem se zdá být načasování hormonální léčby, vzhledem k tomu, že po provedené orchidopexii a biopsii nemusí již být efekt na vyzrání spermatogonií dostatečný. Navíc je z etického hlediska problematické provedení biopsie kontralaterálního varlete k posouzení rozsahu postižení, ještě více komplikované z etických důvodů je hodnocení efektu hormonální léčby ve smyslu rebiopsie varlete.

Důvod podávání hormonální předléčby je založen na prokázané nedostatečné maturaci zárodečných buněk (gonocytů) v adultní spermatogonie při biopsii. Nedostatečná maturace se dává do souvislosti s insuficientní minipubertou, tj. nedostatečnou postnatální hormonální stimulací. Literární údaje o průběhu minipuberty u kryptorchizmu jsou ale nejednoznačné. Z těchto příčin a při současném názoru, že kryptorchizmus souvisí s endokrinopatií, se domníváme, že může být výhodné a potřebné studium minipuberty, tedy časné stanovení hormonálního profilu u chlapců s nesestouplým varletem. Na základě patologického výsledku hodnoty hormonálních hladin by tak bylo možno neinvazivní metodou stanovit jedince vysoce rizikové pro rozvoj budoucí infertility.

Problémem většiny dostupných prací zabývajících se podáváním hormonální léčby v režimu neoadjuvance či adjuvance, je nedostatečná homogenita studovaného souboru, obvykle se jedná o děti s velkým věkovým rozptylem. Základním předpokladem naší práce bylo proto prospektivní zařazení, podle předem stanovených kritérií, vybrané skupiny hochů s diagnostikovaným kryptorchizmem, jejich vyšetření v daných intervalech podle předem definovaného protokolu, provedení laboratorního vyšetření séra, randomizované podání hormonální předléčby gonadorelinem části dětí, provedení orchidopexe do 12 měsíců věku a jejich zařazení k dlouhodobému sledování.

Hlavním cílem naší práce bylo prokázat či vyvrátit údaje o insuficientním průběhu minipuberty u dětí s kryptorchizmem.

Dalším cílem bylo zhodnotit na prospektivní studii, jak ovlivní hormonální předléčba anatomický a hormonální stav chlapců s kryptorchizmem v kojeneckém věku.

Třetím cílem bylo posoudit, do jaké míry terapeutická hormonální předléčba dosahuje fyziologické hormonální stimulace (minipuberta).

Posledním cílem bylo zhodnotit možný vliv mateřského mléka na minipubertu.

5. Materiál a metodika

5.1. Nábor pacientů do studie

Osloveni pro účast ve studii byli rodiče chlapců, kteří byli referováni přímo neonatologem nebo svými praktickými dětskými specialisty k vyšetření pro kryptorchizmus (nepřítomnost varlete v šourku) přímo do ambulance dětské urologie Urologické kliniky VFN a 1. LF UK. Další

chlapani byli ve studii vedeni v rámci detašované ambulance dětské urologie v Jablonci nad Nisou kmenovým lékařem VFN doc. MUDr. Radimem Kočvarou CSc. Pro získání dostatečného objemu studijní skupiny bylo nutno oslovit také spolupracující ambulantní dětské nefrology. Pro tento účel byl vypracován zvací a informační dopis, který byl potenciálním dětským lékařům předem zaslán. Oslovili jsme též neonatologická pracoviště Gynekologicko-porodnické kliniky VFN a 1. LF UK a Ústavu péče o matku a dítě v Podolí, kde jsme očekávali nejčasnější postnatální záchyt nesestouplého varlete. Na obou pracovištích proběhl informační seminář na téma našeho projektu. V rámci klinického semináře jsme oslovili také pediatry z Kliniky pediatrie a dědičných poruch metabolismu VFN a 1. LF UK, zde jsme požádali zejména o pomoc s náborem chlapců do kontrolní skupiny. Všechny oslovené subjekty byly informovány o kontaktní lince ambulance dětské urologie sloužící k včasnému objednání, aby bylo splněno časové kritérium pro první vyšetření.

5.2. Etické schválení a financování projektu

Téma studie, její protokol a podávání hormonální léčby bylo projednáno a schváleno etickou komisí Všeobecné fakultní nemocnice v Praze pod čís.: VFN 35/15. Klinická studie a nákup Kryptokuru® pro klinickou studii byl schválen SÚKL Praha (EudraCT number: 2013-001135-46)

Na projekt byla podána žádost o grant k IGA a následně GAUK. Ani jedna ze žádostí nebyla schválena. Studie byla financována z prostředků Urologické kliniky VFN a 1. LF UK přidělených v rámci Institucionální podpory RVO-VFN64165 a dotace od 1. LF UK.

5.3. Protokol studie

Do sledování byli zařazeni donošení chlapci s kryptorchizmem (narození v 38.-42. týdnu těhotenství) ve stáří do tří měsíců života poté, co jsme rodiče seznámili s problematikou kryptorchizmu a obsahem studie. Chlapci byli zařazeni až po souhlasu rodičů s průběhem studie a podpisu informovaného souhlasu. Naopak ze studie byli vyloučeni chlapci s podezřením na jinou anomálii genitálu či pohlaví (porucha vývoje pohlaví, hypospadie; genetické syndromy), dále předčasně narození chlapci (před 38. týdnem těhotenství) či s nízkou porodní hmotností (pod 2500 g). Dalším vylučovacím kritériem byla zjištěná anomálie CNS či hypofýzy nebo předchozí operace v tříse. Vyloučení ze studie byli i ti, u nichž varle sestoupilo do šourku do 3 měsíců života.

Vstupní kritéria:

- jednostranný, oboustranný kryptorchismus nebo nehmatné varle (jedno či oboustr.)
- donošenost (38. - 42. týden těhotenství), porodní hmotnost nad 2500 g (včetně),
- věk od 2,5 do 3,5 měsíců života

Vylučovací kritéria:

- podezření na jinou anomálii genitálu či pohlaví (porucha vývoje pohlaví, hypospadie; genetické syndromy)
- předčasně narození (před 38. týdnem těhotenství) či s nízkou porodní hmotností (pod 2500 g)
- dále při zjištěné anomálii CNS či hypofýzy
- po operaci v tříse
- chlapci se spontánně sestouplým varletem do šourku do 3 měsíců života
- chlapci starší než 3,5 měsíce

U každého pacienta byl po podpisu informovaného souhlasu proveden odběr žilní krve na hormonální vyšetření v dopoledních hodinách, provedeno komplexní fyzikální vyšetření, ultrazvukové vyšetření varlat a odběr mateřského mléka v případě, že matka kojila. Dítě bylo pozváno na další kontrolu ve věku 6 měsíců. Při této kontrole byl potvrzen nález kryptorchizmu opakovaním fyzikálního a ultrazvukového vyšetření. Rodičům části těchto chlapců byla náhodným výběrem navržena hormonální předléčba Gonadorelinem, u nich byl naplánován kontrolní odběr stimulovaných hormonálních hladin po 3 týdnech užívání. Všem chlapcům bez ohledu na podání hormonální léčby byl vydán termín operačního řešení kryptorchizmu do 12

měsíců věku. Poslední plánované vyšetření (fyzikální, ultrazvukové a odběr krve) probíhalo v den operace na oddělení (ultrasonografie) a na operačním sále v celkové anestezii (krevní odběr, palpce varlat při relaxovaném musculus cremaster, měření anoskrotální distance, délka nataženého penisu, skutečná velikost varlete po jeho deliberaci, zhodnocení stavu disociace nadvarlete a odběr krve).

Ve sledování dětí pokračujeme, první dispenzární kontrola (fyzikální a ultrasonografické vyšetření) mimo standardní pooperační kontrolu proběhla přibližně po roce věku, další bude následovat před nástupem puberty, k poslednímu vyšetření budou chlapci pozváni přibližně v 17 letech věku, kdy je kromě fyzikálního a sonografického vyšetření plánováno provedení vyšetření spermogramu.

Skupina zdravých chlapců zařazených do kontrolní skupiny studie byla vyšetřena ve stejném věku jako hlavní skupina (2,5-3,5 měsíce), provedeno bylo fyzikální a ultrazvukové vyšetření. Byl proveden odběr krve na hormonální vyšetření a kojící matky požádány o vzorek mateřského mléka. Na další kontrolu již nebyli zváni. Vstupními kritérii pro kontrolní skupinu byla přítomnost obou varlat ve skrotu, porodní hmotnost > 2500 g a donošenost (38. - 42. týden těhotenství), zároveň pro ně platila stejná vylučovací kritéria jako pro studijní skupinu.

5.4. Fyzikální a ultrasonografické vyšetření

Děti byly během prvních dvou návštěv fyzikálně vyšetřeny včetně palpce skrota v tzv. tureckém sedu. K měření délky nataženého penisu (SPL; stretched penile length) a anoskrotální distance (ASD) bylo použito standardní měřítko. SPL byla měřena dorzálně na nataženém penisu od symfýzy po vrchol glandu, jako ASD se rozumí vzdálenost od perineálního okraje skrota po okraj anu.

Sonografické vyšetření probíhalo na dvou pracovištích, celkově na dvou ultrazvukových přístrojích (Sonoscape P15 a Philips Affiniti 70G). K vyšetřování skrota, ingvinálních krajin a měření varlat byly použity lineární sondy obou přístrojů se shodným frekvenčním rozsahem 3-12 MHz. Měření varlete bylo provedeno ve třech rovinách, objem varlete byl následně vypočítán jednotným vzorcem pro výpočet rotačního elipsoidu podle Lamberta ($V = L \times W \times H \times 0,71$). Všechny údaje měření byly zaznamenány do předdefinovaných protokolů.

Všechna fyzikální a sonografická vyšetření provedena celkem 6 vyšetřujícími lékaři.

5.5. Odběry a zpracování biologického materiálu

Odběry krve do běžných zkumavek pro separaci séra (Vacutainer®) se žlutým/zlatým uzávěrem o objemu 6 ml byly provedeny dopoledních hodinách (8:00 až 11:00) na Urologické klinice VFN a 1. LF UK, následně byl materiál k dalšímu zpracování neprodleně odeslán do Centrální výzkumné laboratoře 1. LF UK (CVL).

Vzorky byly zpracovány centrifugací (10 minut při 1450 g), získané sérum rozpipetováno dle získaného objemu do několika mikrozkušavek Eppendorf o objemu 0,5 ml a 0,25 ml a následně zamrazeny na teplotu -80°C .

Vzorky odebrané v detašované ordinaci v Jablonci nad Nisou byly krátce po odběru zpracovány podle stejného metodického postupu jako v CVL v Laboratoři klinické biochemie Nemocnice Jablonec nad Nisou. Zamražený materiál byl následně týž den na suchém ledu transportován do CVL k dalšímu zpracování.

Další postup byl v obou případech jednotný, v CVL byly zkumavky o objemu 0,5 ml označeny štítkem s identifikačními údaji pacienta a odeslány k rutinnímu vyšetření hormonů do Centrální laboratoře VFN a 1. LF UK (ÚLBLD; Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky). V rámci rutinního vyšetření byly vyhodnoceny hladiny následujících hormonů: LH, FSH, testosteron, volný testosteron, estradiol, progesteron, SHBG. Hormony jsou stanovovány pomocí automatizované chemiluminiscenční imunoanalýzy akreditovanými postupy.

Ostatní vzorky o menším objemu byly uloženy k pozdější analýze inhibinu B a AMH v CVL, jejich označení bylo anonymizováno kódem pacienta ve studii.

Pro další vyšetření bylo použito mateřské mléko ze střední porce po krátkém odstříknutí/odkojení. Matky byly požádány o objem přibližně 10 ml, pro tento účel jsme použili zkumavku určenou k vyšetření sedimentu moči o objemu 10 ml. Vzorek byl rozpipetován do Eppendorf zkumavek o objemu 0,5 ml, označeny přiděleným kódem pacienta ve studii a zamrazen na -80°C .

Ve vzorcích mateřského mléka byly stanoveny hladiny hormonů: LH, FSH, progesteron a estradiol.

Enzymoimunoanalytické soupravy Beckman Coulter umožnily stanovení AMH a inhibinu B, měření bylo prováděno na přístroji Infinite M200.

Návody k analytickým kitům a metodické postupy pro měření hormonů, které nejsou součástí rutinního vyšetření v ÚLBLD, jsou součástí přílohy.

5.6. Hormonální léčba

Pro hormonální léčbu byl použit gonadorelin v intranasální aplikační formě od společnosti Sanofi, firemním názvem Kryptocur® 0,2mg/vstřík. Léčebné schéma v naší studii bylo 3x denně vstřík do obou nosních dírek, tedy 1,2g/den po dobu 4 týdnů dle pokynů výrobce. V průběhu 3. týdne aplikace byl proveden odběr krve dítěte ke stanovení úrovně hormonální stimulace.

Lék byl objednan přímo přes české zastoupení společnosti Sanofi. Cena za jedno balení se pohybovala kolem 3100 Kč.

Prostředky na nákup léčiva a analytických kitů byly získány z Institucionální podpory VFN (RVO-VFN64165) a dotací od 1. LF UK.

5.7. Statistické zhodnocení

Statistická analýza dat byla provedena užitím software SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Pro měřené parametry byly počítány základní statistické údaje jako průměr, směrodatná odchylka, rozptyl, medián, mezikvartilové rozpětí, minimum, maximum. U kategoričkých proměnných byly zkoumány jejich absolutní a relativní četnosti. Vybrané parametry byly graficky zpracovány do podoby Krabičkových grafů (Box plots) a tzv. Mean plots.

Na porovnání distribucí zkoumaných parametrů mezi testovanými skupinami byly použity neparametrické testy (Wilcoxonův dvouvýběrový test a jeho zobecněná varianta, tzv. Kruskal-Wallis test). Tam, kde bylo velmi málo pacientů jsme použili Exact variantu Wilcoxon testu. Ekvivalenci vybraných parametrů mezi zkoumanými skupinami jsme testovali pomocí testů ekvivalence (TOST). Časově závislé proměnné byly testovány pomocí párového Wilcoxon test, Friedman ANOVY a parametrické analýzy rozptylu (repeated design).

Vztahy mezi proměnnými byly zkoumány pomocí koeficientů korelace (Personovská korelace) a lineární regrese (optimalizační metoda pro nalezení regresní přímky byla zvolena tzv. “metoda nejmenších čtverců”).

Statistická významnost byla stanovena na hranici $\alpha = 5\%$.

Grafy byly zpracovány v software STATISTICA (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA).

6. Výsledky

6.1. Základní charakteristika souboru

6.1.1. Studijní skupina

6.1.1.1. Vstupní vyšetření ve třech měsících věku

V období 2016–2021 jsme do prospektivního sledování při vstupním vyšetření zařadili celkem 118 chlapců (106 s unilaterálně a 12 s bilaterálně nesestouplým varletem). Z prenatálních anamnestických dat jsme zaznamenali u dvou matek graviditu z metod asistované reprodukce, 3 matky během gravidity podstoupily stimulaci Utrogestanem. Pět matek chronicky užívalo léky na hypothyreózu, čtyři matky byly v graviditě léčeny pro gestační diabetes.

Průměrná délka gestace byla 40 týdnů (38-42 týdnů), průměrná porodní hmotnost 3455g (2560-4400g), průměrná délka 50,5cm (46-54cm). Operační porod sekci proběhl u 13 dětí (ve dvou případech pro oběhovou nestabilitu plodu).

V jedenácti případech jsme anamnestickým dotazníkem zjistili dřívější výskyt kryptorchizmu u otce, v pěti případech u sourozence.

Průměrný věk při vstupním vyšetření byl 2,9 měsíce (2-3,5 měsíce). V době vstupního vyšetření nebylo kojeno 15 chlapců z celkového počtu, přičemž 8 mělo již od narození náhradní výživu. Kojení chlapci byli v průměru sedmkrát denně, 25 z celkového počtu vyžadovalo příkrmy.

Varle v ektopické poloze bylo během prvního vyšetření hodnoceno u 6 chlapců. Třináct varlat bylo palpačně hodnoceno jako hypoplastických nebo atrofických ve smyslu hmatného uzlíku. Ve 26 případech unilaterálního kryptorchizmu bylo varle nehmatné, z toho 20 nebylo nalezeno ani sonograficky.

6.1.1.2. Kontrolní vyšetření v šesti měsících věku

Průměrný věk kontrolního vyšetření byl 6,2 měsíce (5,5-8 měsíců). V období mezi vstupním a kontrolním vyšetřením došlo k jednomu spontánnímu sestupu, po kontrolním vyšetření do termínu operace jsme zaznamenali ještě 3 sestupy, všechny ve skupině bez hormonální léčby.

Celkový vývoj všech zařazených dětí probíhal fyziologicky. V době kontrolního vyšetření bylo stále kojeno ještě 50 dětí, z nich 17 plně bez příkrmů.

V hlavní skupině jednostranně nesestouplých varlat byl počet hodnocených jako ektopie 7, v ingvinální poloze bylo celkem 41 varlat. Nehmatných varlat bylo celkem 31, z nich 21 nebylo možné posoudit ani sonograficky.

Podali jsme celkem 49 dávek neoadjuvantní hormonální léčby gonadorelinem. V rámci podání jsme zaznamenali jedenkrát nežádoucí účinek ve smyslu otoku nosní sliznice po aplikaci léčiva. Z tohoto důvodu byla léčba ukončena. Tento chlapec nebyl zařazen do finální analýzy.

6.1.1.3. Perioperační vyšetření

Průměrný věk zařazení k operační léčbě byl 12,1 měsíců (8-24 měsíců), celkem jsme operovali 106 dětí. V souboru byly zaznamenány výše zmíněné 4 spontánní sestupy. 8 dětí podstoupilo operační léčbu na jiném pracovišti.

V období mezi kontrolním vyšetřením a operací došlo ke dvěma torzím varlete (jedna ve skupině s hormonální stimulací, jedna ve skupině bez stimulace). Obě torze podstoupily operační řešení, obě s nutností provést orchiektomii nekrotického varlete.

Z operovaných dětí jsem celkem v 12 případech provedli orchiektomii pro atrofický uzlík testikulární tkáně, u 3 chlapců byla zjištěna anorchie. Perioperačně jsme hodnotili stupeň disociace nadvarlete, ten byl u 11 chlapců částečný, v 78 případech bylo hodnoceno jako kompletní disociace. Nejčastější lokalizací nálezu retence jednostranně nesestouplého varlete byla ingvinální poloha (46 případů), 22 preingvinálně, 14 varlat bylo umístěných intrabdominálně, v ektopické poloze jsme našli 10 varlat.

6.1.2. Kontrolní skupina – vyšetření ve třech měsících

Celkově bylo do kontrolní skupiny zařazeno 31 zdravých chlapců. Všichni zařazení splňovali inkluzní kritéria. Jednalo se o primárně zcela zdravé chlapce, důvodem pro vyšetření ostatních byla medulární cystická nemoc ledvin v 5 případech. Tři chlapci byli vyšetřeni pro solitární ledvinu, dva pro kongenitální hydronefrózu. Dva chlapci byli hospitalizováni pro respirační infekt.

Žádná z matek nepodstoupila hormonální stimulaci, všechna těhotenství probíhala fyziologicky, jedenkrát byl operační porod sekci pro velikost plodu. Průměrná délka gestace byla 39,7 týdne (38-42), průměrná porodní hmotnost byla 3438g (2600-4550g), průměrná

porodní délka 50,1cm (47-54cm). U dvou chlapců v rámci rodinné anamnézy byl záchyt kryptorchizmu u otce.

V době vstupního vyšetření bylo kojeno celkem 29 chlapců z kontrolní skupiny, frekvence kojení byla v průměru 7x denně, příkrmy dostávalo sedm chlapců.

6.2. Anatomické a hormonální nálezy

6.2.1. Vyšetření ve třech měsících, minipuberta

Vstupní kritéria a kompletní výsledky pro zařazení do srovnání v době vstupního vyšetření, v době minipuberty splnilo 77 chlapců s unilaterálně nesestouplým varletem (průměrný věk 2,94 měsíců; 2,3-3,5), 12 s oboustranným nálezem (3 měsíce; 3-3,5) a 31 zdravých chlapců z kontrolní skupiny (2,7 měsíce; 2-3,7). U všech těchto dětí zařazených do studie byl později potvrzen trvalý kryptorchizmus a byli indikováni k operačnímu řešení. Anatomické a hormonální parametry (délka penisu, anoskrotální distance, celkový objem testikulární tkáně; SHBG, LH, FSH, Estradiol, Progesteron, Testosteron, volný Testosteron, Inhibin a AMH) jednotlivých skupin jsou shrnuty v tabulkách 1, 2, 3.

	průměr	minimální hodnota	maximální hodnota	směrodatná odchylka	medián
SPL (mm)	45,49	24	58	6,38	45
ASD (mm)	30,26	11	45	7,61	30
testikulární objem (ml)	1,02	0,42	1,84	0,32	0,93
SHBG	160,28	77,80	269,90	43,85	164,60
LH	2,30	0,57	7,28	1,41	1,80
FSH	1,45	0,30	3,06	0,63	1,40
Estradiol	0,04	0,04	0,04	0	0,04
Progesteron	0,69	0,30	1,70	0,32	0,60
Testosteron	5,25	1,03	15,18	2,77	4,74
free Testosteron	4,65	0,07	10,58	2	4,35
Inhibin B	312,73	122,80	624,70	87,08	299,50
AMH	330,96	93,70	630,00	152,59	284,40

Tab. 1, Unilaterálně nesestouplé varle; SHBG – Sex hormone binding globuline (nmol/l), LH – Luteinizační hormon (IU/l), FSH – Folikuly stimulační hormon (IU/l),

Estradiol (nmol/l), Progesteron (nmol/l), Testosteron (nmol/l), free Testosteron (pmol/l), AMH – Antimülleriánský hormon (ng/ml), Inhibin B (pg/ml)

	průměr	minimální hodnota	maximální hodnota	směrodatná odchylka	medián
SPL (mm)	42,91	28	55	9,41	48
ASD (mm)	32,00	20	45	7,42	29
testikulární objem (ml)	0,82	0,46	1,42	0,32	0,73
SHBG	160,05	90,00	269,30	55,58	156,50
LH	2,25	0,61	4,75	1,08	2,06
FSH	1,76	0,57	4,02	1,03	1,58
Estradiol	0,04	0,04	0,04	0	0,04
Progesteron	0,66	0,30	1,20	0,29	0,60
Testosteron	4,55	0,85	10,56	3,44	4,03
free Testosteron	4,99	0,53	13,5	3,72	4,50
Inhibin B	320,96	239,80	411,40	59,64	335,10
AMH	227,45	119,50	630,00	142,78	196,50

Tab. 2, Bilaterálně nesestoupulé varle; SHBG – Sex hormone binding globuline (nmol/l), LH – Luteinizační hormon (IU/l), FSH – Folikuly stimulační hormon (IU/l), Estradiol (nmol/l), Progesteron (nmol/l), Testosteron (nmol/l), free Testosteron (pmol/l), AMH – Antimülleriánský hormon (ng/ml), Inhibin B (pg/ml)

	průměr	minimální hodnota	maximální hodnota	směrodatná odchylka	medián
SPL (mm)	38,42	26	59	7,24	38
ASD (mm)	30,19	20	40	4,36	30
testikulární objem (ml)	1,13	0,58	2,30	0,35	1,10
SHBG	130,83	61,1	190,1	37,78	127,2
LH	1,69	0,2	4,16	0,92	1,75
FSH	1,31	0,26	2,74	0,62	1,19
Estradiol	0,04	0,04	0,04	0	0,04
Progesteron	0,93	0,30	1,60	0,51	0,80
Testosteron	4,28	0,37	9,08	2,01	4,19
free Testosteron	3,67	0,89	10,40	2,19	3,20
Inhibin B	312,22	172,60	442,80	69,18	309,60
AMH	376,47	70,70	630,00	172,57	340,50

Tab. 3, Kontrolní skupina; SHBG – Sex hormone binding globuline (nmol/l), LH – Luteinizační hormon (IU/l), FSH – Folikuly stimulační hormon (IU/l), Estradiol (nmol/l), Progesteron (nmol/l), Testosteron (nmol/l), free Testosteron (pmol/l), AMH – Antimülleriánský hormon (ng/ml), Inhibin B (pg/ml)

6.2.2. Vyšetření ve třech měsících, minipuberta - hodnocení statisticky významných výsledků

Jednotlivé parametry skupin byly vzájemně porovnány (unilaterální versus bilaterální kryptorchismus; unilaterální versus kontroly; bilaterální versus kontroly) a statisticky zhodnoceny (ANOVA), viz tab. 4.

Ve skupině unilaterálního kryptorchizmu jsme našli větší délku penisu (průměrná délka 45,5mm vs. 38,4mm), vyšší SHBG (160,28 vs 130,83 nmol/l) a vyšší volný testosteron v porovnání s kontrolami (4,65 vs. 3,67).

Ve skupině bilaterálního kryptorchizmu jsme zjistili menší testikulární objem v porovnání s kontrolami (0,82 vs. 1,2 ml) a unilaterálním kryptorchizmem (0,82 vs. 1,13 ml). Dále jsme prokázali nižší hladinu AMH u bilaterálního kryptorchizmu při porovnání s unilaterálním kryptorchizmem (330,96 vs. 227,45 ng/ml) a zdravými kontrolami (376,47 vs. 227,45 ng/ml).

Nepotvrdili jsme významné rozdíly v základních parametrech minipuberty (Testosteron, LH, FSH, Estradiol). však nevýznamně vyšší hodnoty LH a testosteronu u unilaterálního kryptorchizmu mohou být v souvislost s vyšším SHBG a volným testosteronem, a také známkou vyšší aktivace hypothalamo-hypofýzo-testikulární osy.

	unilaterální vs bilaterální	unilaterální vs kontrolní	bilaterální vs kontrolní
SPL	0,50	0,001	0,19
ASD	0,62	0,79	0,61
testikulární objem	0,04	0,13	0,01
SHBG	0,76	0,003	0,17
LH	0,57	0,07	0,08
FSH	0,51	0,28	0,25
Estradiol	1	1	1
Progesteron	0,89	0,06	0,20
Testosteron	0,30	0,19	0,98
free Testosteron	0,91	0,01	0,28
Inhibin B	0,54	0,84	0,65
AMH	0,01	0,15	0,01

Tab. 4, Hladiny statistické významnosti porovnání naměřených hodnot mezi skupinami; neparametrická ANOVA, hladina významnosti $p < 0,05$

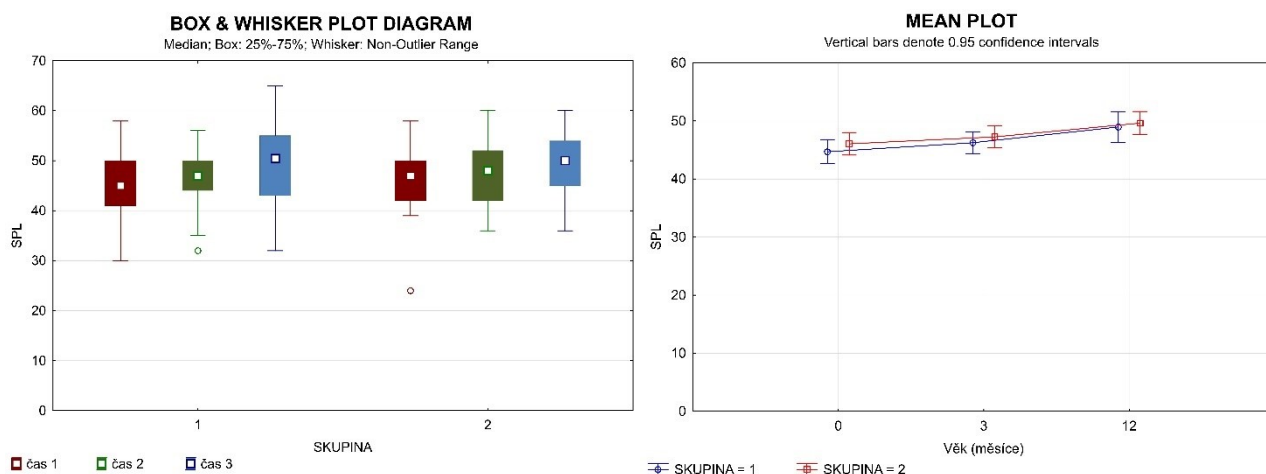
6.3. Srovnání vývoje anatomického a hormonálního nálezu u unilaterálního kryptorchizmu s podáním a bez podání hormonální předléčby

Do analýzy bezpečnost podávání hormonální léčby byli zahrnuti chlapci s jednostranně nesestouplým varletem. Vyhodnoceny byly pouze kompletní záznamy dostupné při vstupním vyšetření a při vyšetření v době operace. Ke statistickému zpracování bylo zařazeno 34 chlapců, kterým byla před operací podána neoadjuvantní hormonální léčba ve věku 6 měsíců (skupina 1: průměrný věk při vstupním vyšetření 3 měsíce, 2,5-3,5; průměrný věk v době operace 11,6 měsíce, 10-21), a 37 chlapců, kteří byli přímo bez hormonální předléčby zařazeni k orchidopexi (skupina 2: průměrný věk při vstupním vyšetření 2,9 měsíce, 2,3-3,2; průměrný věk v době operace 12,2 měsíce, 10-24). Porovnáním naměřených parametrů (věk a fyzikální vyšetření) v obou skupinách v době vstupního vyšetření a v době operace jsme mezi oběma skupinami nezaznamenali signifikantní rozdíl, tedy zastoupení chlapců v obou skupinách je symetrické. Objem varlat byl hodnocen pro každé samostatně (sestouplé, nesestouplé), též byl hodnocen tzv. objem testikulární tkáně, tedy součet objemů obou varlat.

6.3.1. Délka penisu (SPL)

skupina	1			2		
	vstupní vyš.	kontrolní	operace	vstupní vyš.	kontrolní	operace
průměrný věk (měsíce)	3	6	11,6	2,9	6	12,2
průměr (mm)	44,71	46,24	48,97	46,05	47,2	49,62
minimální hodnota (mm)	30	32	32	24	36	36
maximální hodnota (mm)	58	56	65	58	60	60
směrodatná odchylka	5,99	5,74	7,79	5,96	5,81	6,24
medián (mm)	45	47	50,5	47	48	50

Tab. 5, Srovnání SPL u unilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



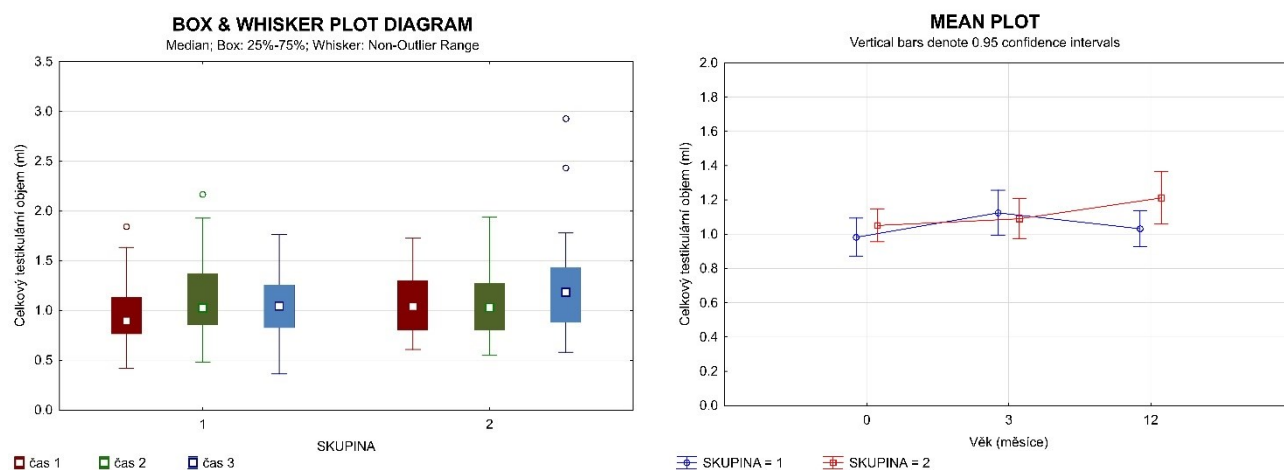
Graf 1, vývoj SPL, skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

V obou skupinách jsme zjistili významný nárůst délky penisu mezi oběma měřeními (skupina 1 $p=0,0004$; skupina 2 $p=0,0008$). Nenalezli jsme významný rozdíl mezi skupinami s podanou hormonální léčbou a bez ní (Wilcoxon test, $p=0,74$). Podání hormonální léčby nemělo vliv na růst penisu.

6.3.2. Celkový objem testikulární tkáně (součet objemů obou varlat)

skupina	1			2		
	vstupní vyš.	kontrolní	operace	vstupní vyš.	kontrolní	operace
průměrný věk (měsíce)	3	6	11,6	2,9	6	12,2
průměr (ml)	0,98	1,12	1,03	1,05	1,09	1,21
minimální hodnota (ml)	0,42	0,48	0,36	0,61	0,55	0,58
maximální hodnota (ml)	1,84	2,17	1,76	1,72	1,94	2,93
směrodatná odchylka	0,33	0,39	0,31	0,29	0,36	0,47
medián (ml)	0,9	1,02	1,05	1,04	1,03	1,18

Tab. 6, Srovnání celkového objemu testikulární tkáně u unilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



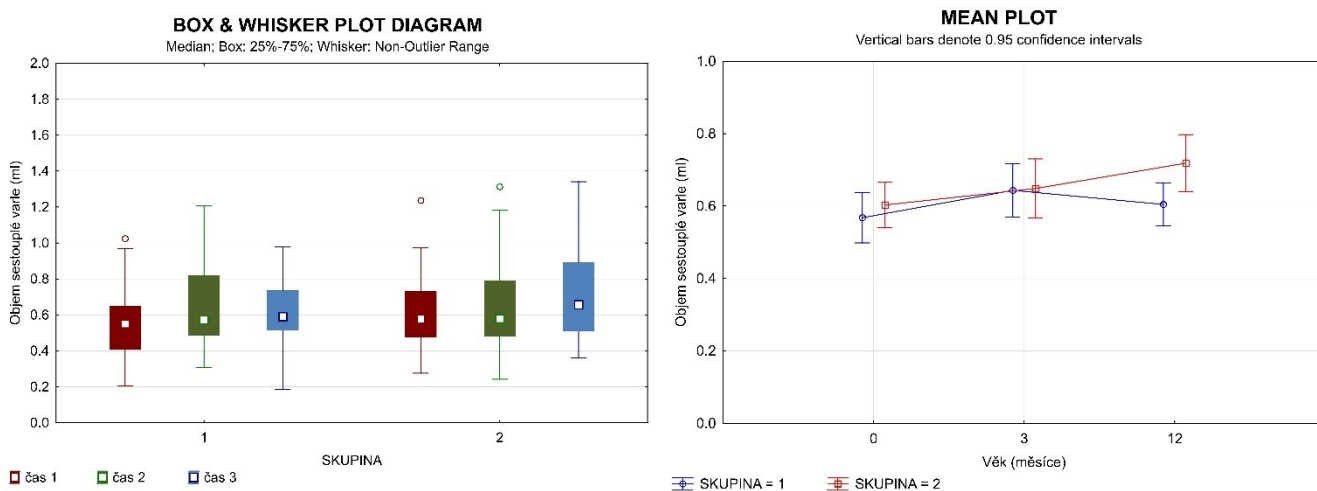
Graf 2, vývoj celkového objemu testikulární tkáně, skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

Prokázali jsme hraničně významnou dynamiku růstu celkového objemu testikulární tkáně pouze ve skupině bez podání hormonální léčby ($p=0,0497$). Ačkoliv došlo ve skupině s podanou léčbou k poklesu hodnoty mezi vyšetřením v šesti měsících a dobou operace, rozdíl při porovnání trendu v obou skupinách však nebyl významný ($p=0,44$).

6.3.3. Objem kontralaterálního sestouplého varlete

skupina	1			2		
	vstupní vyš.	kontrolní	operace	vstupní vyš.	kontrolní	operace
průměrný věk (měsíce)	3	6	11,6	2,9	6	12,2
průměr (ml)	0,57	0,64	0,61	0,6	0,65	0,72
minimální hodnota (ml)	0,21	0,31	0,19	0,28	0,24	0,36
maximální hodnota (ml)	1,02	1,21	0,98	1,24	1,31	1,34
směrodatná odchylka	0,21	0,22	0,18	0,2	0,22	0,25
medián (ml)	0,56	0,58	0,59	0,58	0,58	0,66

Tab. 7, Srovnání objemu sestouplého varlete u unilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



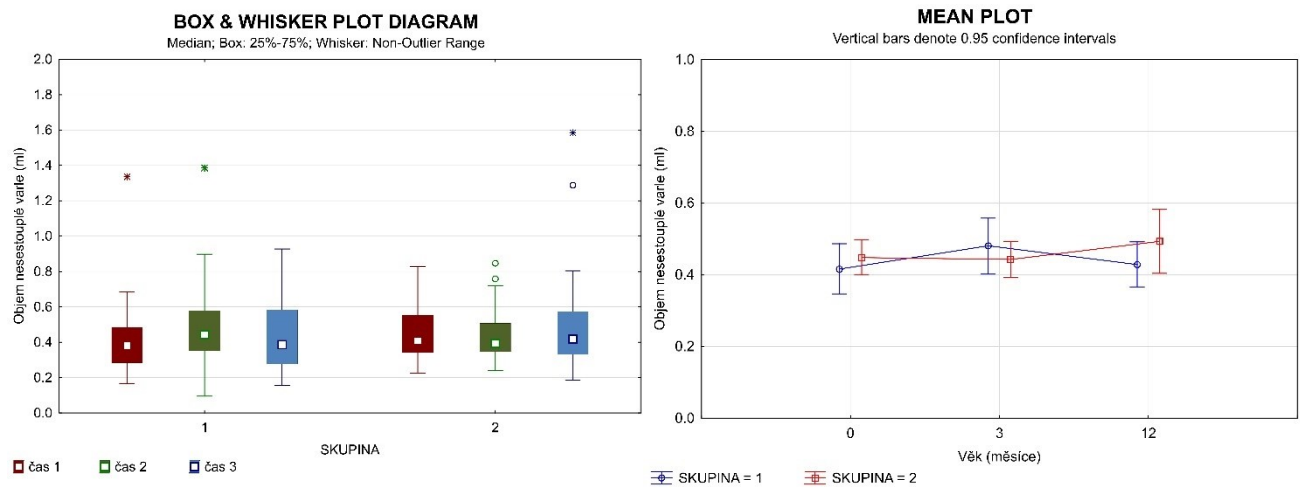
Graf 3, vývoj objemu sestouplého varlete, skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

V obou skupinách jsme zaznamenali nárůst objemu sestouplého varlete mezi vstupním vyšetřením a dobou operace, statisticky významný je jen ve skupině bez podané léčby ($p=0,01$). Rozdíl v nárůstu objemu varlete mezi skupinami nebyl významný ($p=0,28$).

6.3.4. Objem nesestouplého varlete

skupina	1			2		
	vstupní vyš.	kontrolní	operace	vstupní vyš.	kontrolní	operace
průměrný věk (měsíce)	3	6	11,6	2,9	6	12,2
průměr (ml)	0,42	0,48	0,43	0,45	0,44	0,49
minimální hodnota (ml)	0,17	0,09	0,16	0,22	0,24	0,18
maximální hodnota (ml)	1,34	1,39	0,93	0,83	0,85	1,59
směrodatná odchylka	0,21	0,23	0,19	0,15	0,16	0,28
medián (ml)	0,38	0,44	0,39	0,41	0,39	0,42

Tab. 8, Srovnání objemu nesestouplého varlete u unilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



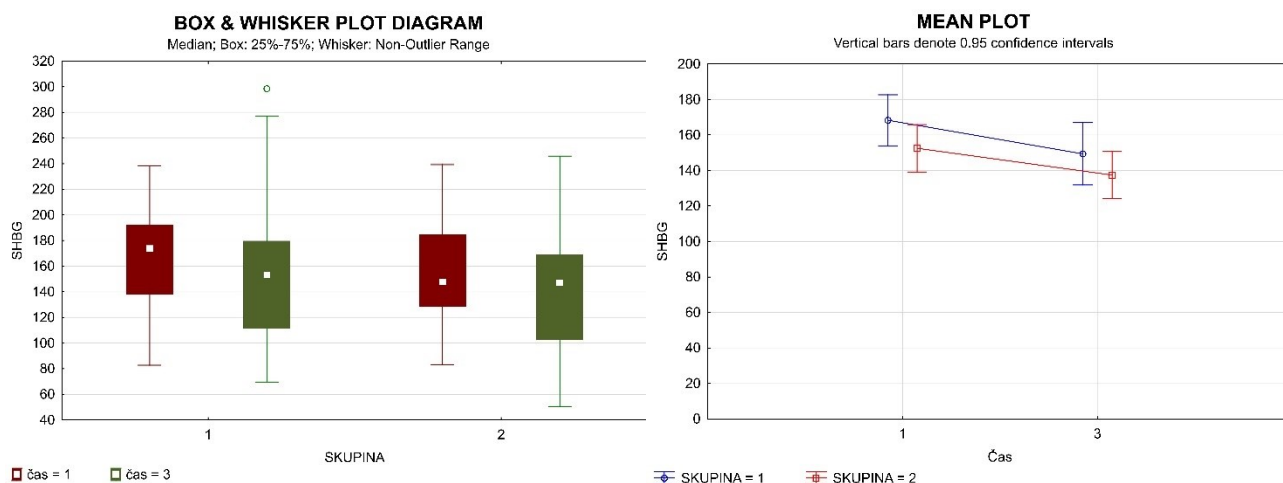
Graf 4, vývoj objemu nesestouplého varlete, skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

Prokázali jsme minimální nárůst objemu nesestouplého varlete v obou skupinách, který ale nebyl významný (skupina 1 $p=0,63$; skupina 2 $p=0,74$), rozdíl v nárůstu mezi oběma skupinami také nebyl významný ($p=0,88$).

6.3.5. SHBG

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměrný věk (měsíce)	3	11,6	2,9	12,2
průměr (nmol/l)	168,33	149,36	152,52	137,44
minimální hodnota (nmol/l)	82,7	69,7	83	50,4
maximální hodnota (nmol/l)	238,2	298,5	239,3	245,8
směrodatná odchylka	42,65	52,11	41,45	41,19
medián (nmol/l)	173,8	153,2	147,7	147

Tab. 9, Srovnání hladin SHBG (Sex hormone binding globuline) u unilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



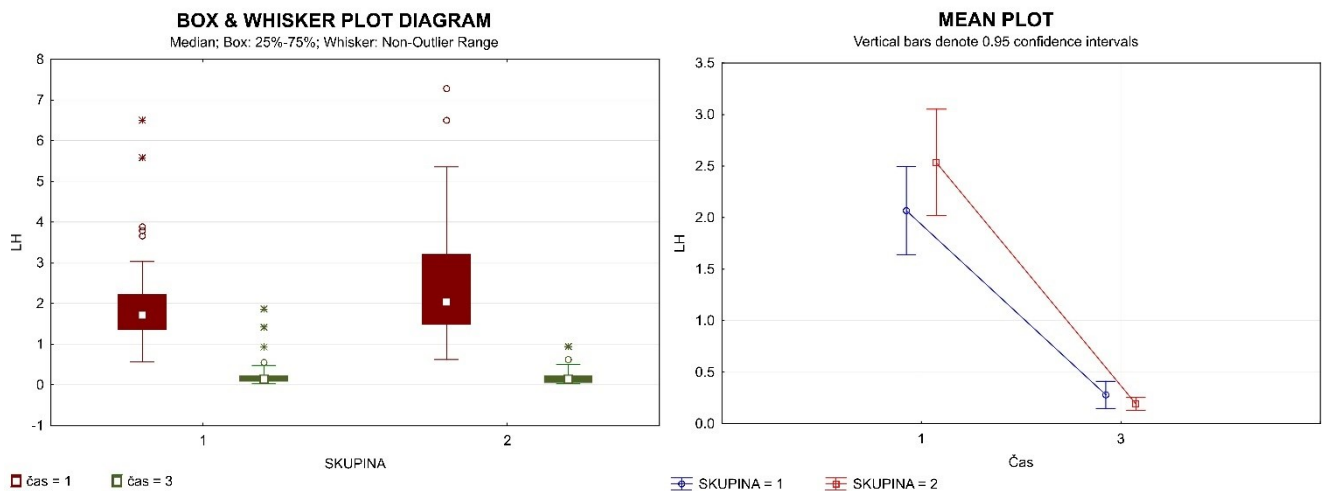
Graf 5, vývoj SHBG, skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

V obou skupinách došlo k významnému poklesu hladiny SHBG (skupina 1 $p=0,02$; skupina 2 $p=0,039$). Rozdíl vývoje hormonální hladiny nebyl mezi skupinami významný ($p=0,59$), podaná hormonální léčba ve věku 6 měsíců nemá vliv na hladinu SHBG v době operace.

6.3.6. LH

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměrný věk (měsíce)	3	11,6	2,9	12,2
průměr (IU/l)	2,07	0,28	2,54	0,19
minimální hodnota (IU/l)	0,57	0,03	0,62	0,03
maximální hodnota (IU/l)	6,5	1,86	7,28	0,94
směrodatná odchylka	1,28	0,39	1,6	0,2
medián (IU/l)	1,72	0,14	2,04	0,14

Tab. 10, Srovnání hladin LH (Luteinizační hormon) u unilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



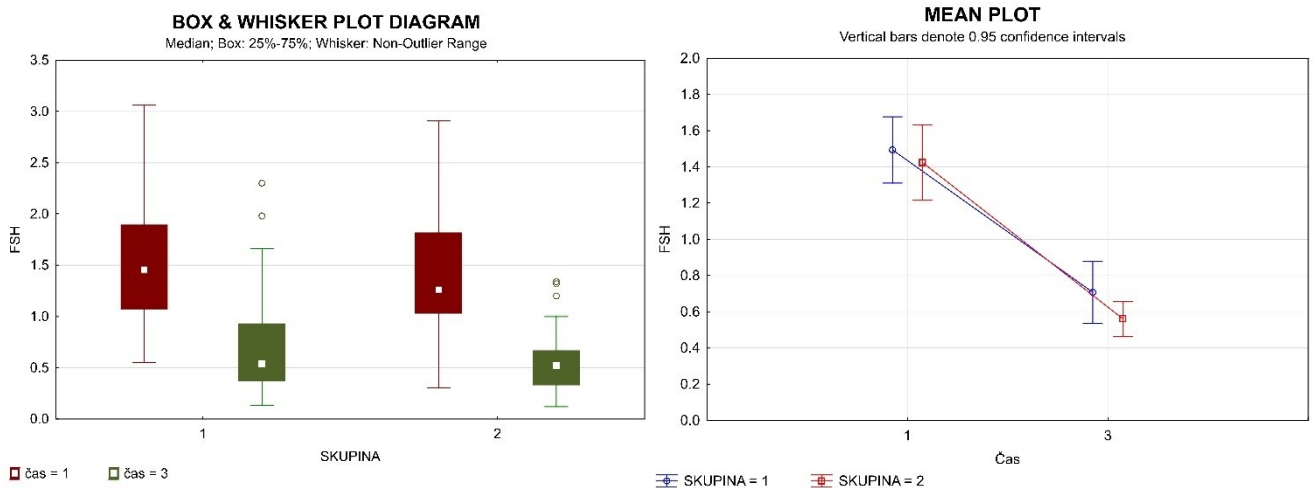
Graf 6, vývoj LH, skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

Hormonální hladiny LH v obou skupinách významně poklesly (obě skupiny $p=0,0001$), rozdíl ve vývoji mezi skupinami byl nevýznamný $p=0,16$. Hormonální léčba nemá vliv na hladinu LH v době operace.

6.3.7. FSH

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměrný věk (měsíce)	3	11,6	2,9	12,2
průměr (IU/l)	1,49	0,71	1,43	0,56
minimální hodnota (IU/l)	0,55	0,13	0,3	0,12
maximální hodnota (IU/l)	3,06	2,3	2,91	1,34
směrodatná odchylka	0,55	0,51	0,64	0,3
medián (IU/l)	1,46	0,54	1,26	0,52

Tab. 11, Srovnání hladin FSH (Folikuly stimulační hormon) u unilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



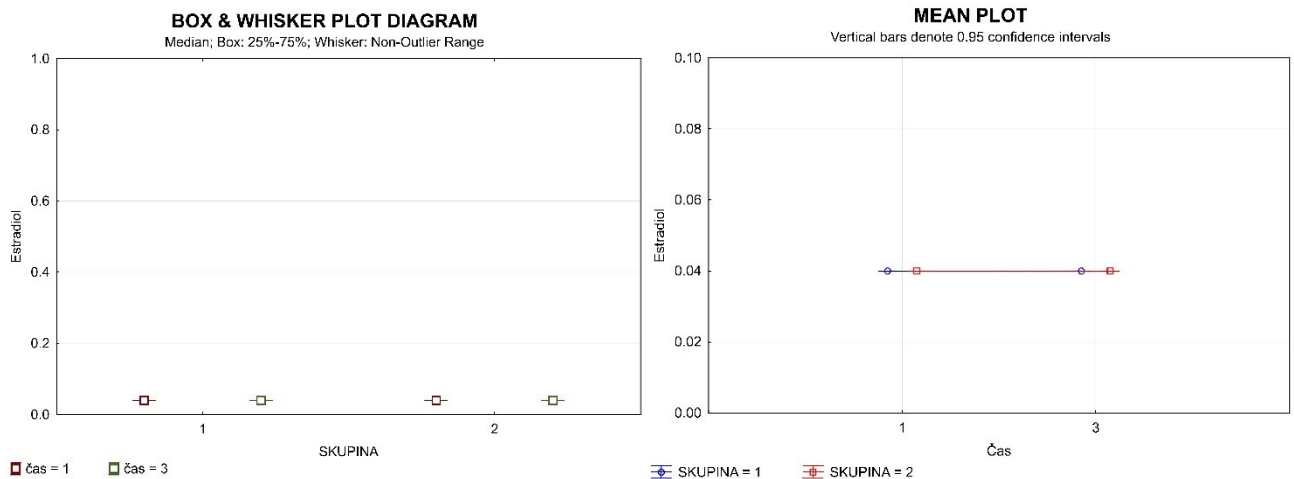
Graf 7, vývoj FSH, skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

Sérové hodnoty FSH mezi vstupním vyšetřením a dobou operace významně poklesly (obě skupiny $p=0,0001$), rozdíl mezi skupinami byl nevýznamný $p=0,47$. Hormonální předlčba neovlivňuje klidové hladiny FSH v době operace.

6.3.8. Estradiol

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměrný věk (měsíce)	3	11,6	2,9	12,2
průměr (nmol/l)	0,04	0,04	0,04	0,04
minimální hodnota (nmol/l)	0,04	0,04	0,04	0,04
maximální hodnota (nmol/l)	0,04	0,04	0,04	0,04
směrodatná odchylka	0	0	0	0
medián (nmol/l)	0,04	0,04	0,04	0,04

Tab. 12, Srovnání hladin Estradiolu u unilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



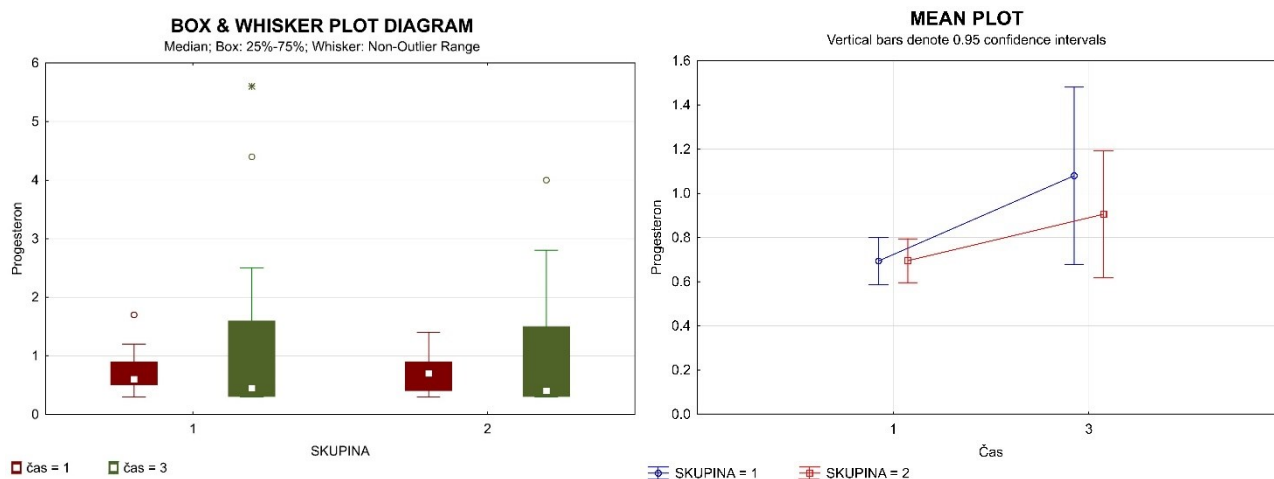
Graf 8, vývoj hladin Estradiolu, skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

Hodnoty Estradiolu v krevním séru byly po celou dobu neměřitelné v rámci obou skupin, proto ani rozdíl mezi skupinami nebyl významný ($p=1$).

6.3.9. Progesteron

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměrný věk (měsíce)	3	11,6	2,9	12,2
průměr (nmol/l)	0,69	1,08	0,69	0,91
minimální hodnota (nmol/l)	0,3	0,3	0,3	0,3
maximální hodnota (nmol/l)	1,7	5,6	1,4	4
směrodatná odchylka	0,32	1,2	0,31	0,89
medián (nmol/l)	0,6	0,45	0,7	0,4

Tab. 13, Srovnání hladin Progesteronu u unilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předléčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



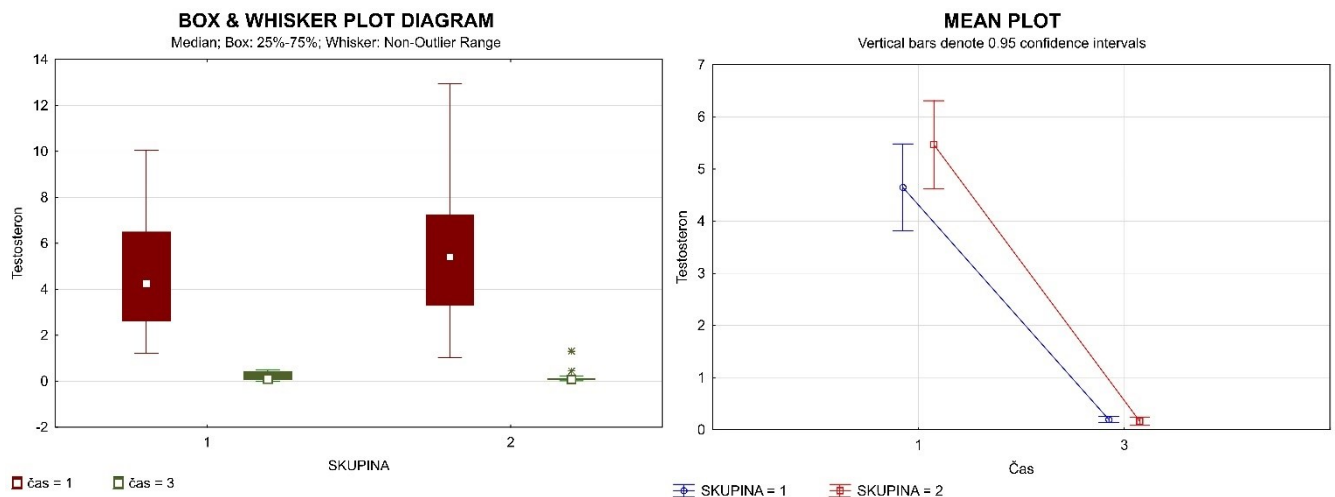
Graf 9, vývoj hladin Progesteronu, skupina 1 předléčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

Hladiny progesteronu v krevním séru vzrostly mezi oběma měřeními v obou skupinách, tento nárůst ale nebyl významný ($p=0,32$ resp. $p=0,48$), a významně se nelišil u obou skupin ($p=0,95$). Klidová hladina progesteronu není ovlivněna podanou hormonální léčbou.

6.3.10. Testosteron

Skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměrný věk (měsíce)	3	11,6	2,9	12,2
průměr (nmol/l)	4,65	0,2	5,47	0,16
minimální hodnota (nmol/l)	1,21	0,01	1,03	0,02
maximální hodnota (nmol/l)	10,06	0,5	12,95	1,31
směrodatná odchylka	2,49	0,18	2,61	0,24
medián (nmol/l)	4,26	0,1	5,41	0,08

Tab. 14, Srovnání hladin Testosteronu u unilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



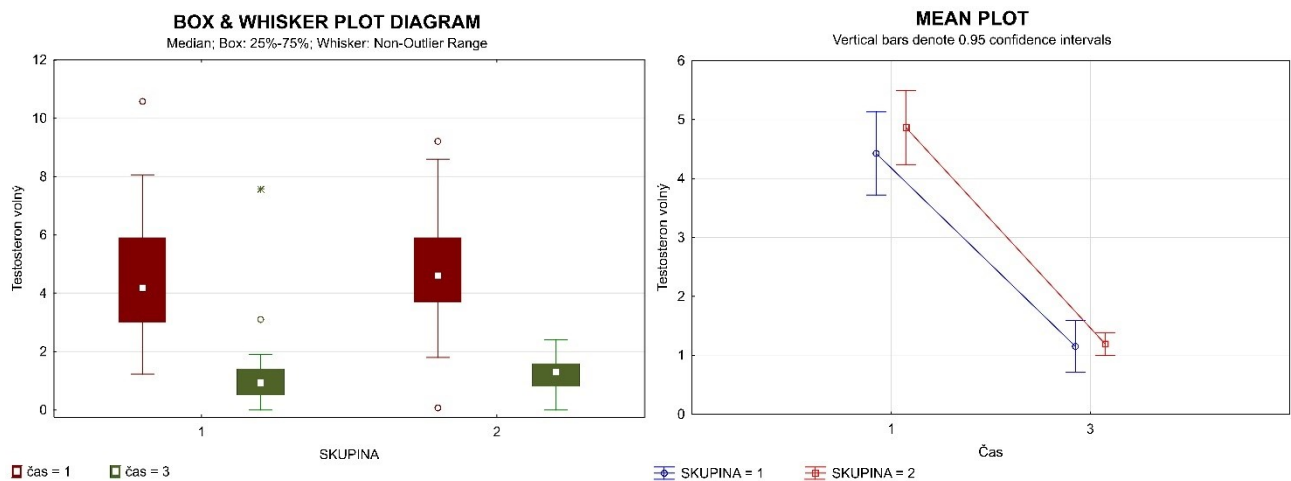
Graf 10, vývoj hladin Testosteronu, skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

V průběhu měření došlo v obou skupinách k významnému poklesu hladiny testosteronu (obě skupiny $p=0,0001$), bez nálezu rozdílu mezi skupinami ($p=0,16$). Hladina testosteronu v době operace není ovlivněna hormonální léčbou aplikovanou ve věku 6 měsíců.

6.3.11. volný Testosteron

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměrný věk (měsíce)	3	11,6	2,9	12,2
průměr (pmol/l)	4,43	1,15	4,86	1,19
minimální hodnota (pmol/l)	1,23	0,001	0,07	0,001
maximální hodnota (pmol/l)	10,58	7,57	9,21	2,4
směrodatná odchylka	2,1	1,31	1,97	0,59
medián (pmol/l)	4,18	0,93	4,6	1,3

Tab. 15, Srovnání hladin volného Testosteronu u unilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



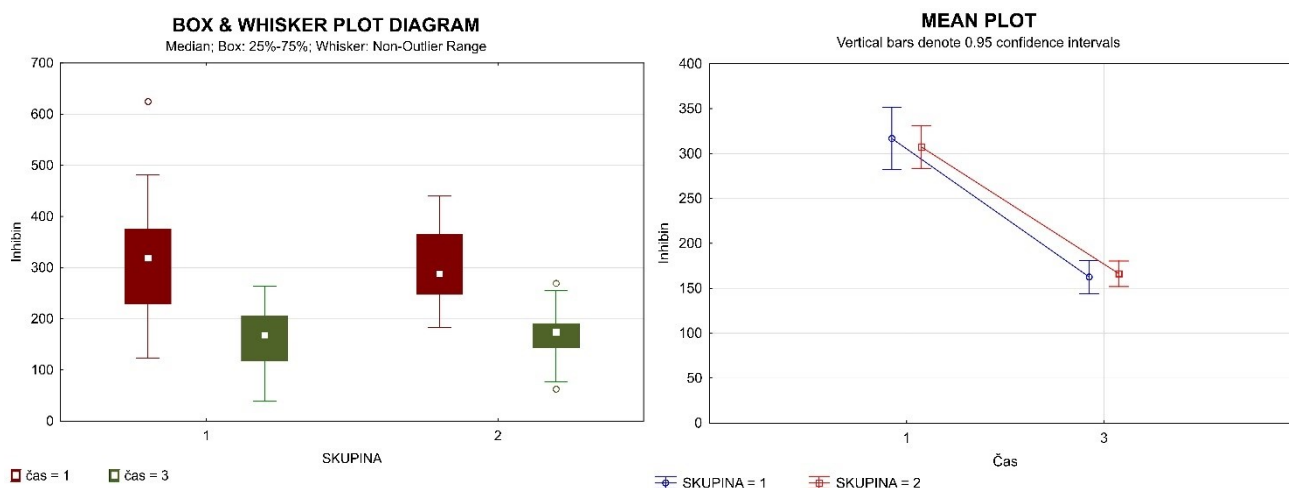
Graf 11, vývoj hladin volného Testosteronu, skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

Mezi oběma odběry došlo k významnému poklesu hladiny volného testosteronu (obě skupiny shodně $p=0,0001$), rozdíl mezi skupinami byl nevýznamný ($p=0,29$). Hladina hormonu v době operace nebyla ovlivněna podanou hormonální léčbou.

6.3.12. Inhibin B

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměrný věk (měsíce)	3	11,6	2,9	12,2
průměr (pg/ml)	316,8	162,68	307,3	166,34
minimální hodnota (pg/ml)	122,8	38,5	183	62,5
maximální hodnota (pg/ml)	624,7	263,4	440	269,3
směrodatná odchylka	102,49	54,81	74,33	44,01
medián (pg/ml)	319	168	287,9	173,6

Tab. 16, Srovnání hladin Inhibinu B u unilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



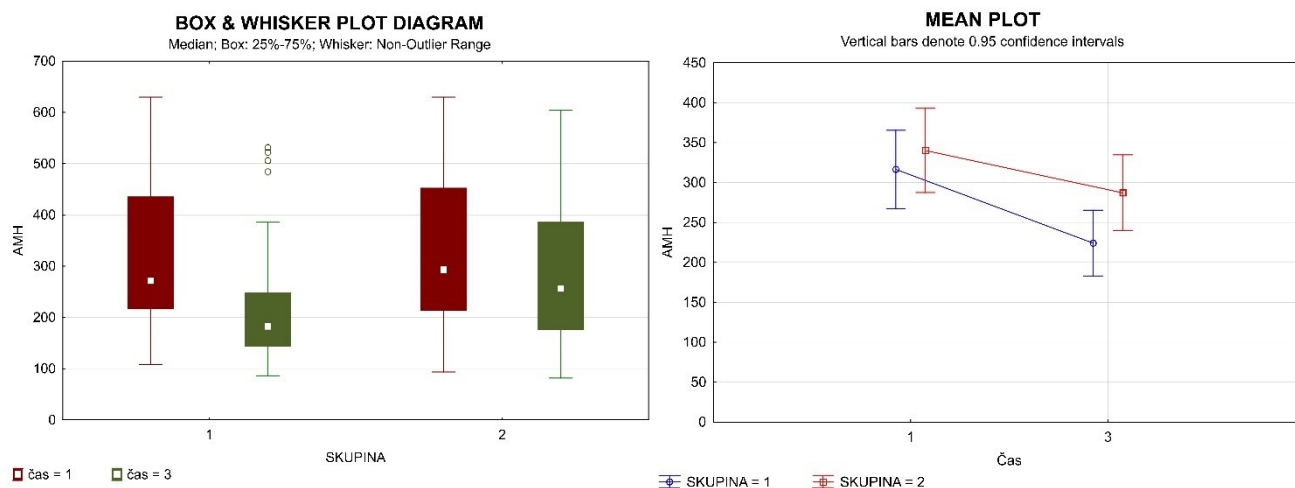
Graf 12, vývoj hladin Inhibinu B, skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

Hodnoty Inhibinu B v séru významně poklesly mezi vstupním vyšetřením a dobou operace v obou skupinách (shodně $p=0,0001$), neprokázali jme významný rozdíl mezi skupinami ($p=0,48$). Podání hormonální stimulace neovlivnilo hladinu inhibinu B v době operace v porovnání se skupinou bez hormonální léčby.

6.3.13. Antimülleriánský hormon (AMH)

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměrný věk (měsíce)	3	11,6	2,9	12,2
průměr (ng/ml)	316,44	224,11	340,1	287,06
minimální hodnota (ng/ml)	108,6	85,7	93,7	81,7
maximální hodnota (ng/ml)	630	531,6	630	603,8
směrodatná odchylka	145,7	122,87	163,39	147,65
medián (ng/ml)	271,6	182,75	293,3	256,4

Tab. 17, Srovnání hladin AMH (Antimülleriánského hormonu) u unilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



Graf 13, vývoj hladin AMH, skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

Hladiny AMH prokazují významný pokles v čase mezi vstupním vyšetřením a dobou operace (v obou skupinách $p=0,0001$), u tohoto parametru jsme prokázali významný rozdíl mezi skupinami ($p=0,01$). Hladiny AMH byly v době operace u skupiny hormonálně předlčené významně nižší než u skupiny, která podstoupila jen operační řešení.

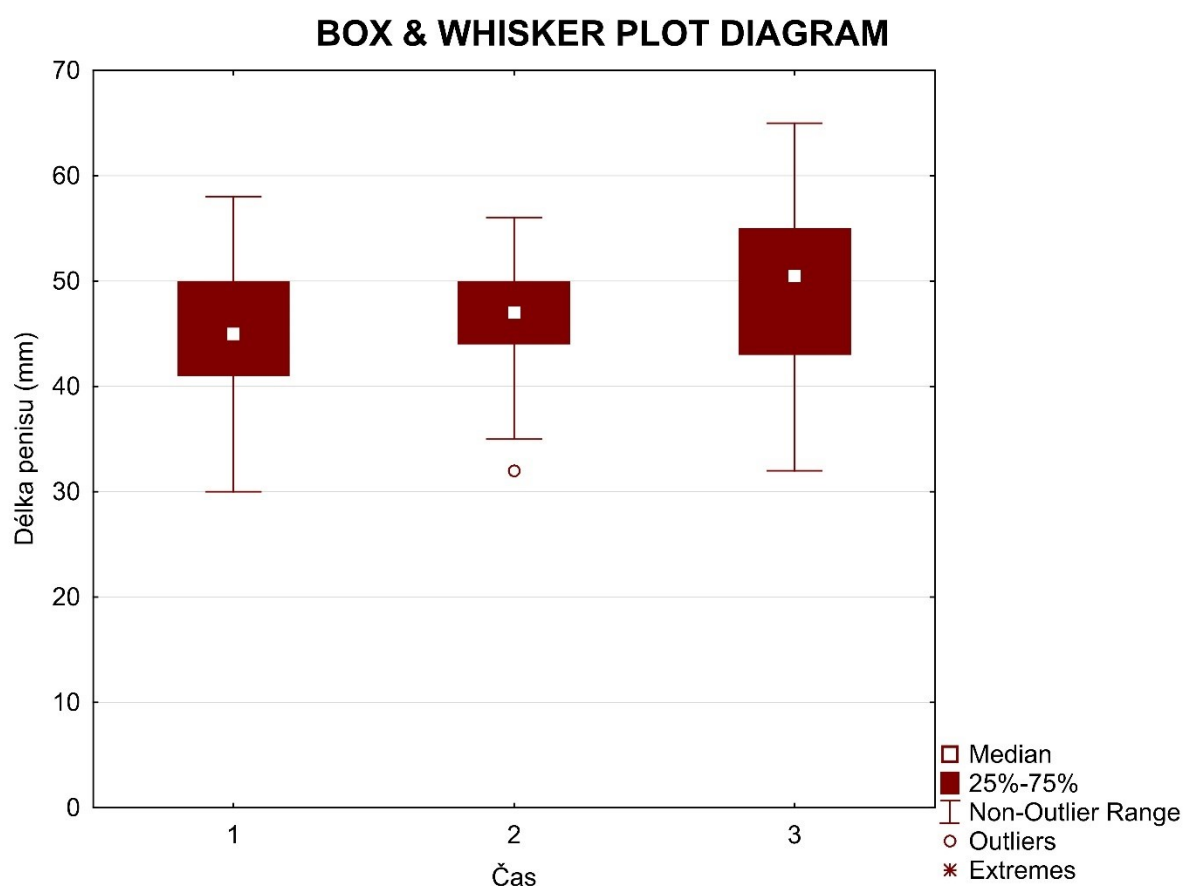
6.4. Vyhodnocení vývoje sledovaných parametrů ve skupině s podanou hormonální léčbou

V této analýze jsme hodnotili soubor 34 chlapců (průměrný věk při vstupním vyšetření 3 měsíce, 2,5-3,5; průměrný věk v době operace 11,6 měsíce, 10-21), kteří měli kontrolní fyzikální vyšetření v 6 měsících (před podáním hormonální léčby) a následně jim byla podána neoadjuvantní hormonální léčba gonadorelinem, po třech týdnech užívání byla provedena analýza stimulovaných hormonálních hladin. Statisticky byla hodnocena hladina v 6 měsících při hormonální stimulaci s ohledem na to, zda je hodnota blíže fyziologické stimulaci osy v době minipuberty či klidovému stavu v době kolem operace. Hodnotili jsme též anatomické změny na zevním genitálu.

6.4.1. Délka nataženého penisu (SPL)

vyšetření	vstupní vyš.	kontrolní vyš.	v době operace
průměr (mm)	44,7	46,24	48,97
minimální hodnota (mm)	30	32	32
maximální hodnota (mm)	58	56	65
směrodatná odchylka	5,99	5,74	7,79
medián (mm)	45	47	50,5

Tab. 18, Srovnání SPL (délky nataženého penisu) u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku



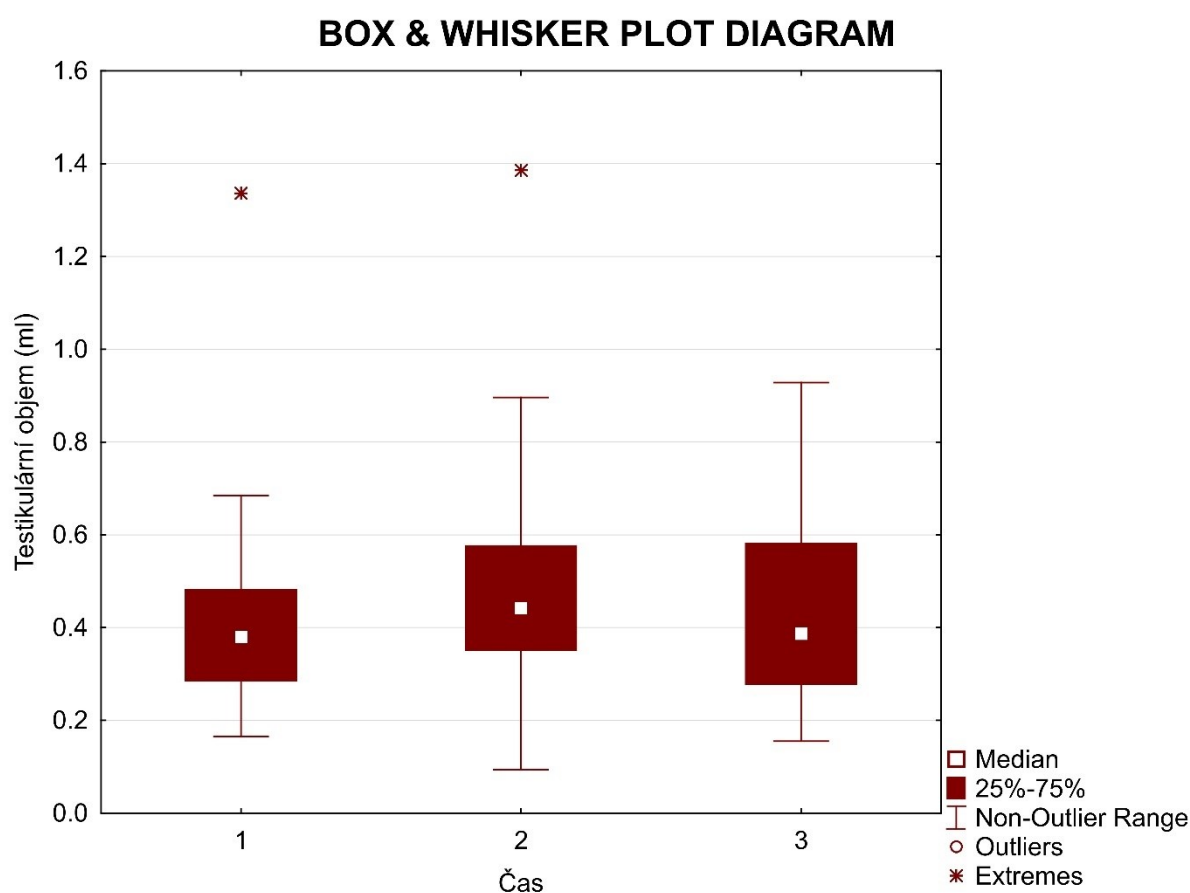
Graf 14, vývoj SPL u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku

V průběhu měření došlo k nárůstu délky penisu. Vyšetření v 6 měsících je před podáním hormonální léčby. Délka penisu narostla bez rozdílu v obou intervalech (vstupní vyšetření – kontrola – operace), ($p=0,07$).

6.4.2. Celkový objem testikulární tkáně

vyšetření	vstupní vyš.	kontrolní vyš.	v době operace
průměr (ml)	0,98	1,12	1,03
minimální hodnota (ml)	0,42	0,48	0,36
maximální hodnota (ml)	1,84	2,17	1,76
směrodatná odchylka	0,33	0,39	0,31
medián (ml)	0,89	1,02	1,05

Tab. 19, Srovnání celkového testikulárního objemu u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku



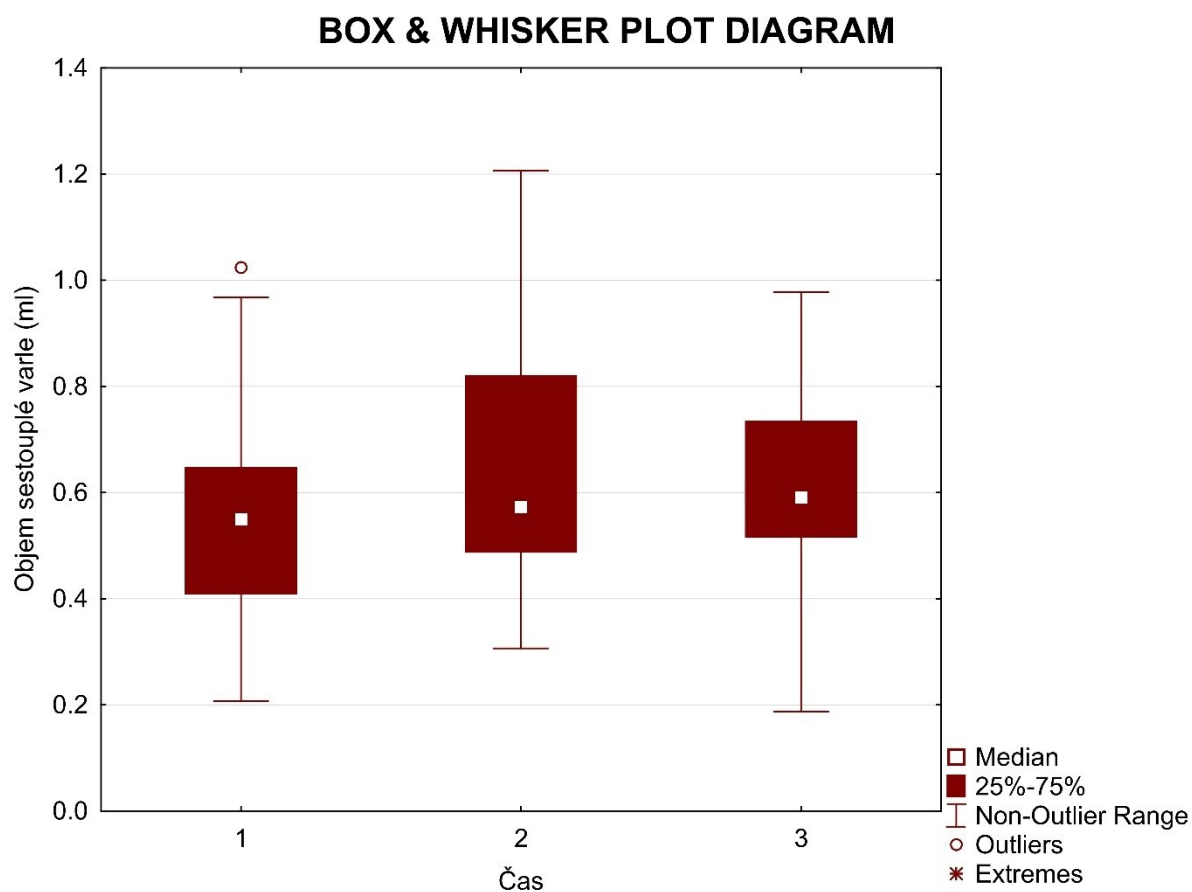
Graf 15, vývoj celkového testikulárního objemu u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku

Celkový objem testikulární tkáně zaznamenal trend nárůstu k nejvyšší hodnotě v době kontrolního vyšetření v 6 měsících následovaný poklesem v době operace, avšak tato hodnota je vyšší než v době vstupního vyšetření. Rozdíl změny nebyl významný ($p=0,57$). Vyšetření v 6 měsících je před podáním hormonální léčby.

6.4.3. Objem sestouplého varlete

vyšetření	vstupní vyš.	kontrolní vyš.	v době operace
průměr (ml)	0,57	0,64	0,6
minimální hodnota (ml)	0,21	0,31	0,19
maximální hodnota (ml)	1,02	1,21	1,21
směrodatná odchylka	0,21	0,22	0,18
medián (ml)	0,56	0,58	0,59

Tab. 20, Srovnání objemu sestouplého varlete u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku



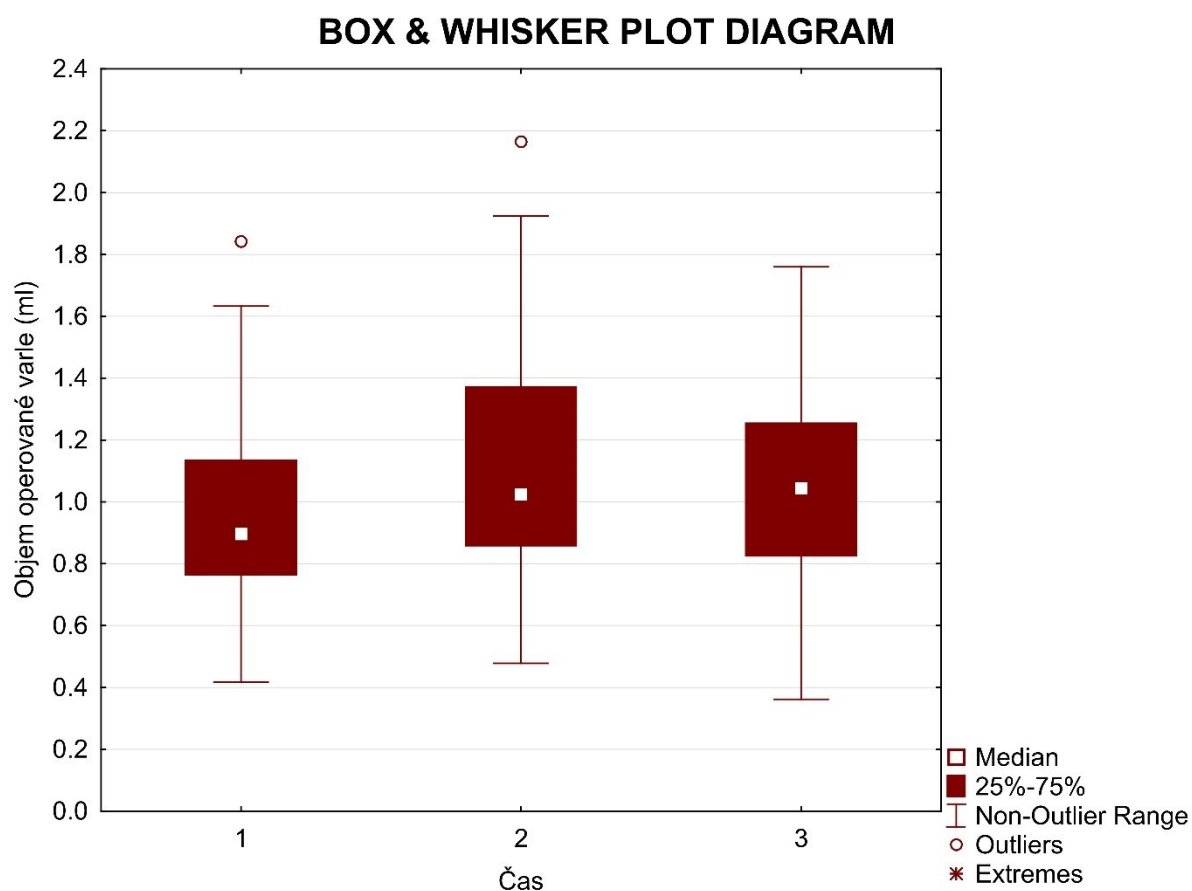
Graf 16, vývoj objemu sestouplého varlete u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku

Objem sestouplého varlete byl nejvyšší při vyšetření v 6 měsících, pozorovali jsme mírný pokles v době operace, absolutní hodnota ale byla vyšší než vstupní. Rozdíl nebyl významný ($p=0,72$). Vyšetření v 6 měsících je před podáním hormonální léčby.

6.4.4. Objem nesestouplého (operovaného) varlete

vyšetření	vstupní vyš.	kontrolní vyš.	v době operace
průměr (ml)	0,42	0,48	0,43
minimální hodnota (ml)	0,17	0,09	0,16
maximální hodnota (ml)	1,34	1,39	0,93
směrodatná odchylka	0,21	0,23	0,19
medián (ml)	0,38	0,44	0,39

Tab. 21, Srovnání objemu nesestouplého varlete u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku



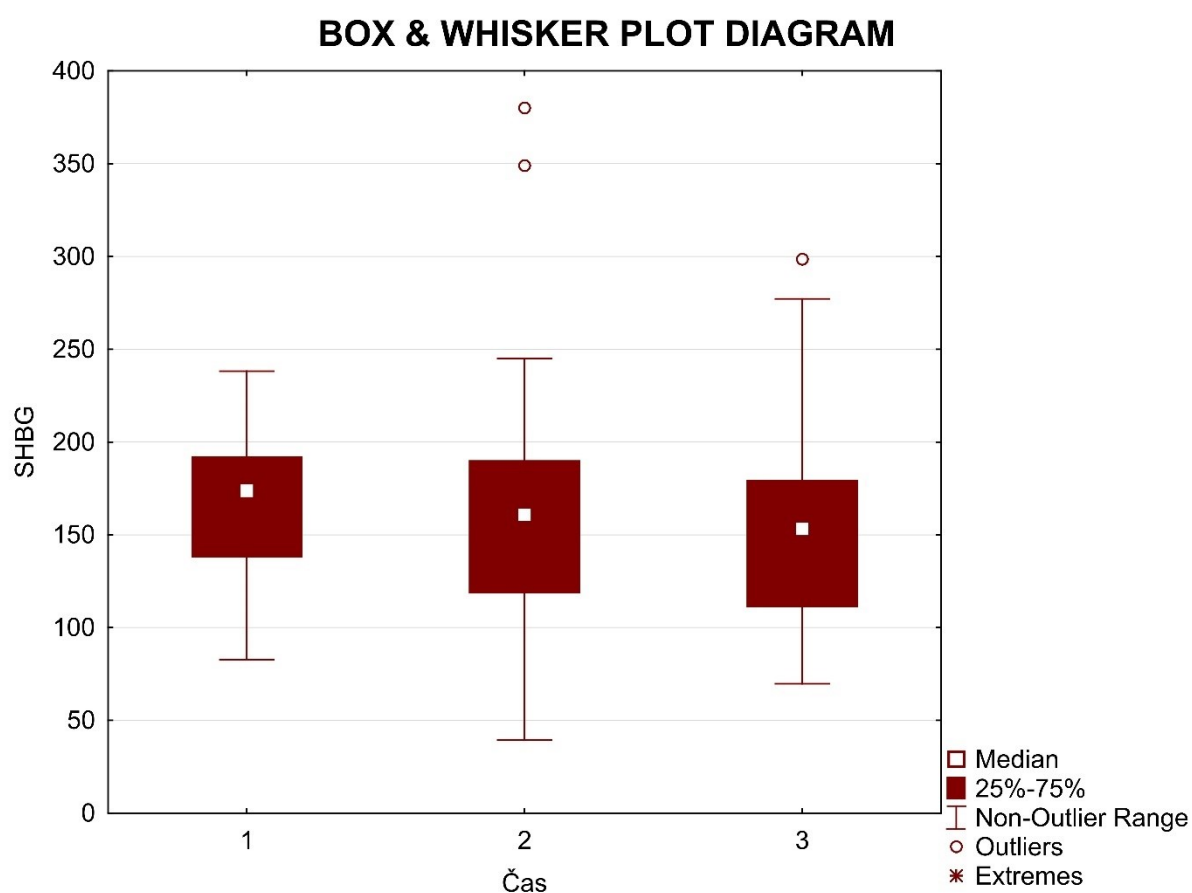
Graf 17, vývoj objemu nesestouplého varlete u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku

Při vyšetření v 6 měsících byla hodnota objemu nesestouplého varlete nejvyšší, v době operace poklesla, ale zůstala vyšší než iniciální. Rozdíl v průběhu měření nebyl významný ($p=0,42$). Vyšetření v 6 měsících je před podáním hormonální léčby.

6.4.5. SHBG

vyšetření	vstupní vyš.	kontrolní vyš.	v době operace
průměr (nmol/l)	168,33	163,66	149,36
minimální hodnota (nmol/l)	82,7	39,5	69,7
maximální hodnota (nmol/l)	238,2	380,1	298,5
směrodatná odchylka	42,65	67,03	52,11
medián (nmol/l)	173,8	160,9	153,2

Tab. 22, Srovnání hladiny SHBG (Sex hormone binding globuline) u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku



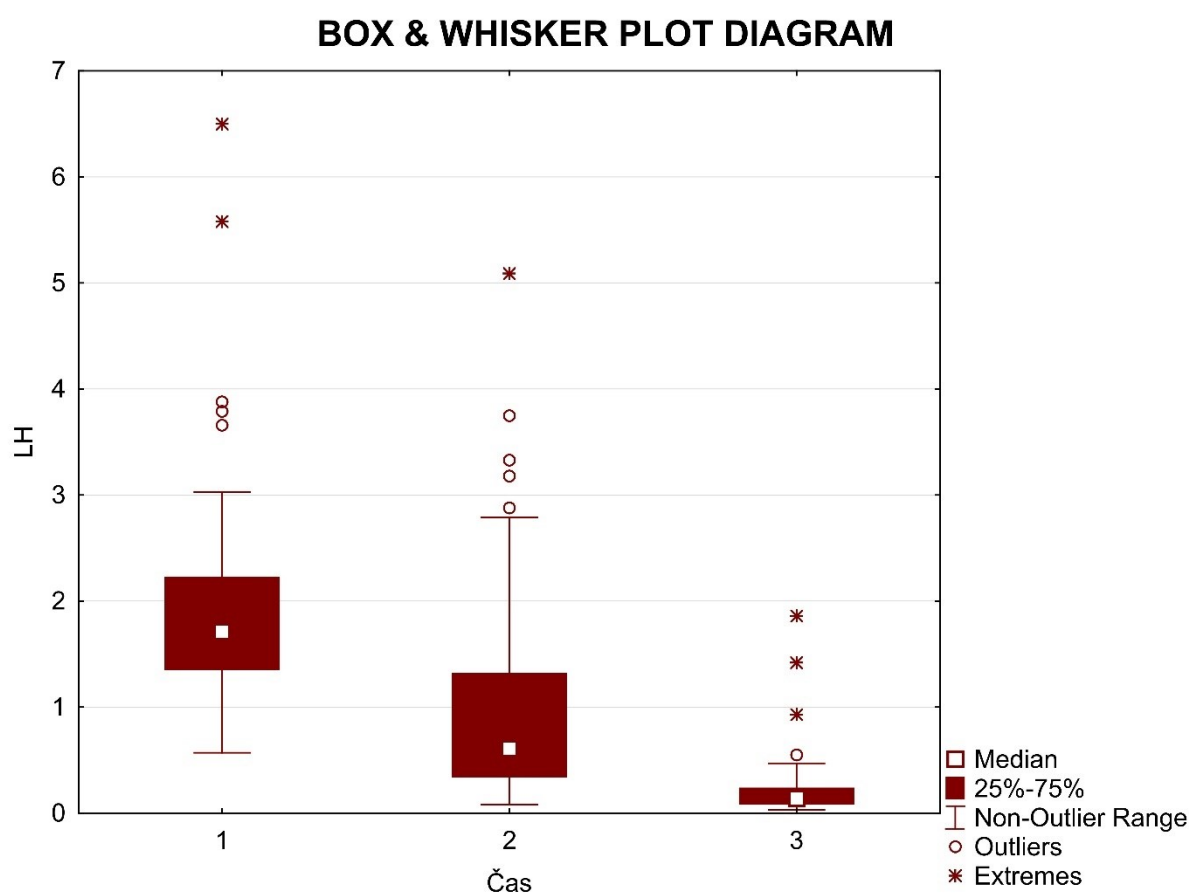
Graf 18, vývoj hodnot SHBG u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku

Od vstupního vyšetření postupně hodnota SHBG klesala. Dle Wilcoxonova testu rozdíl hodnoty změny v obou intervalech nebyl významný ($p=0,12$). Hormonální hladiny v době stimulace se významně nepřiblížily ani k hodnotám naměřeným v době minipuberty, ani ke klidovým hodnotám v době operace.

6.4.6. LH

vyšetření	vstupní vyš.	kontrolní vyš.	v době operace
průměr (IU/l)	2,07	1,15	0,28
minimální hodnota (IU/l)	0,57	0,08	0,03
maximální hodnota (IU/l)	6,5	5,09	1,86
směrodatná odchylka	1,28	1,23	0,39
medián (IU/l)	1,72	0,61	0,14

Tab. 23, Srovnání hladiny LH (luteinizační hormon) u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku



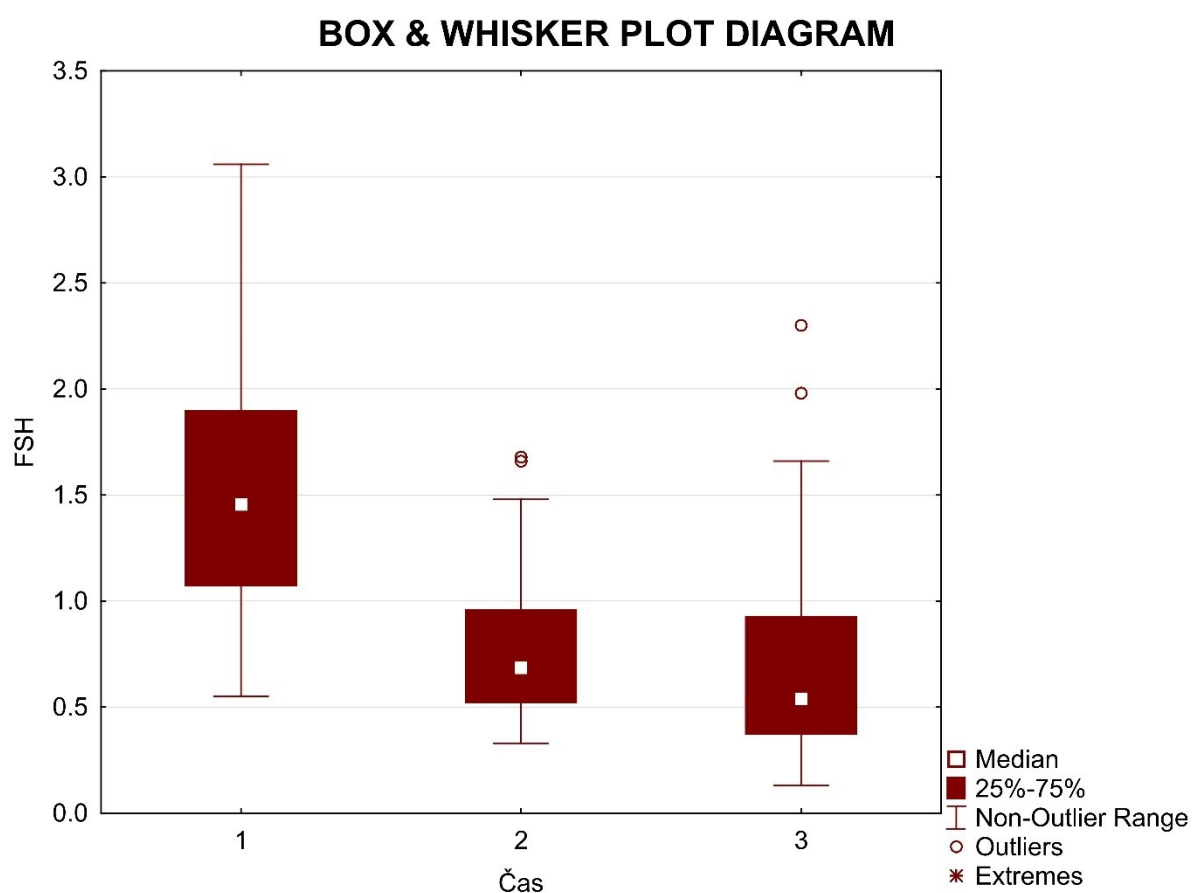
Graf 19, vývoj hodnot LH u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku

V průběhu měření došlo k poklesu hodnot LH, rozdíl změny v obou intervalech ale nebyl významný ($p=0,24$). **Hladina v době podání léčby gonadorelinem je významně nižší než v době minipuberty (fyziologické stimulace).**

6.4.7. FSH

vyšetření	vstupní vyš.	kontrolní vyš.	v době operace
průměr (IU/l)	1,49	0,77	0,71
minimální hodnota (IU/l)	0,55	0,33	0,13
maximální hodnota (IU/l)	3,06	1,68	2,3
směrodatná odchylka	0,54	0,36	0,51
medián (IU/l)	1,46	0,69	0,54

Tab. 24, Srovnání hladiny FSH (Folikuly stimulační hormon) u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku



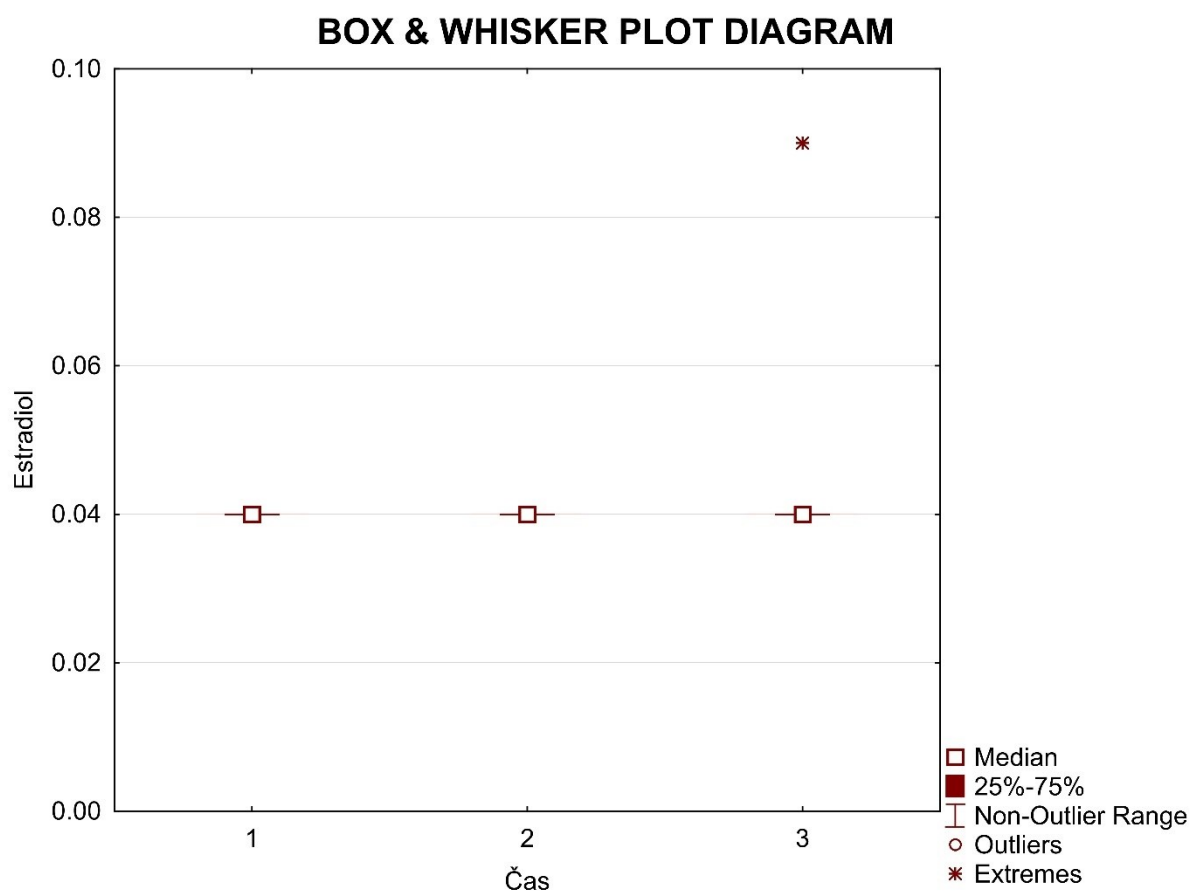
Graf 20, vývoj hodnot FSH u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku

Pokles hladiny FSH v prvním intervalu je významně větší než ve druhém ($p < 0,0001$). **Hladina v době podání léčby gonadorelinem je významně nižší než v době minipuberty (fyziologické stimulace).**

6.4.8. Estradiol

vyšetření	vstupní vyš.	kontrolní vyš.	v době operace
průměr (nmol/l)	0,04	0,04	0,046
minimální hodnota (nmol/l)	0,04	0,04	0,04
maximální hodnota (nmol/l)	0,04	0,04	0,09
směrodatná odchylka	0	0	0,02
medián (nmol/l)	0,04	0,04	0,04

Tab. 25, Srovnání hladiny Estradiolu u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku



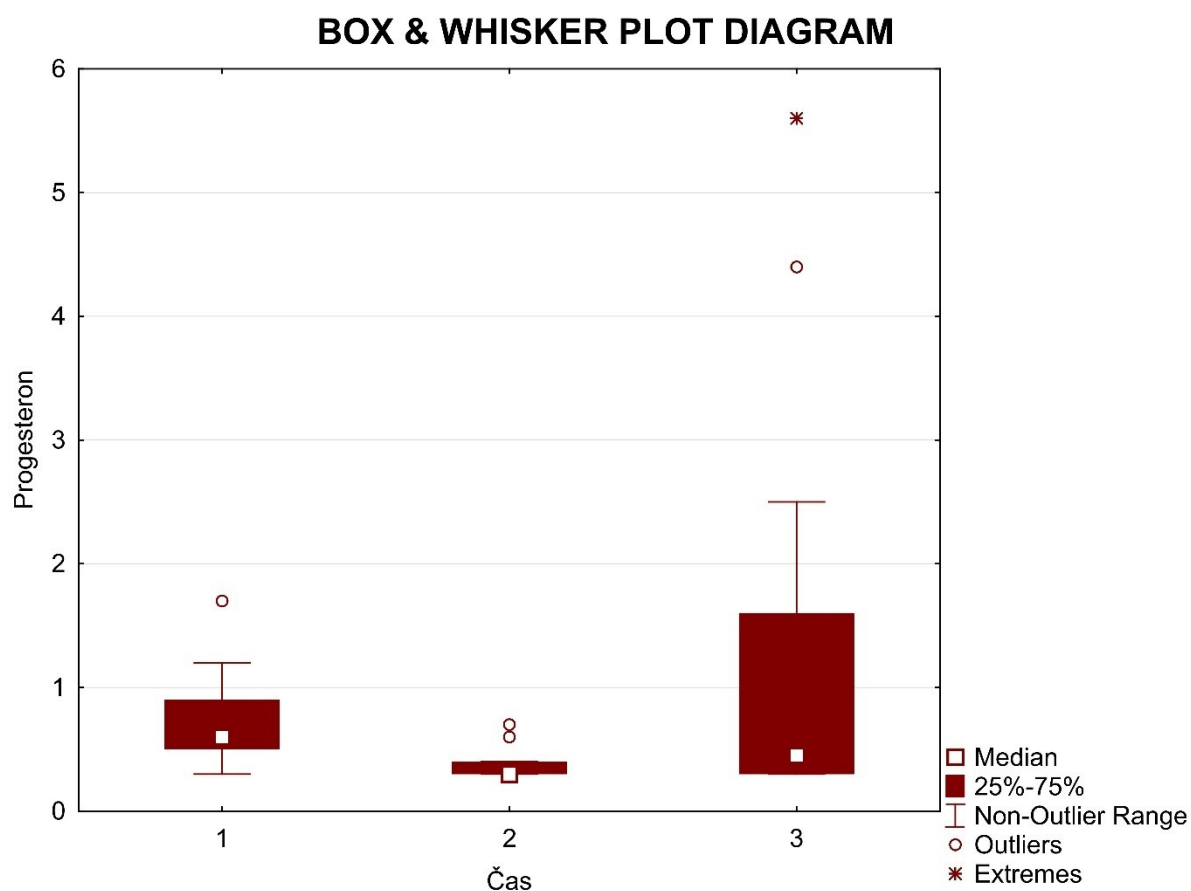
Graf 21, vývoj hodnot Estradiolu u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku

Sérové hodnoty estradiolu byly po celou dobu sledování prakticky neměřitelné, nedošlo tedy k žádné změně. Extrém měřený v době operace byl způsoben změnou laboratorní referenční meze estradiolu.

6.4.9. Progesteron

vyšetření	vstupní vyš.	kontrolní vyš.	v době operace
průměr (nmol/l)	0,69	0,36	1,08
minimální hodnota (nmol/l)	0,3	0,3	0,3
maximální hodnota (nmol/l)	1,7	0,7	5,6
směrodatná odchylka	0,32	0,13	1,2
medián (nmol/l)	0,6	0,3	0,45

Tab. 26, Srovnání hladiny Progesteronu u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku



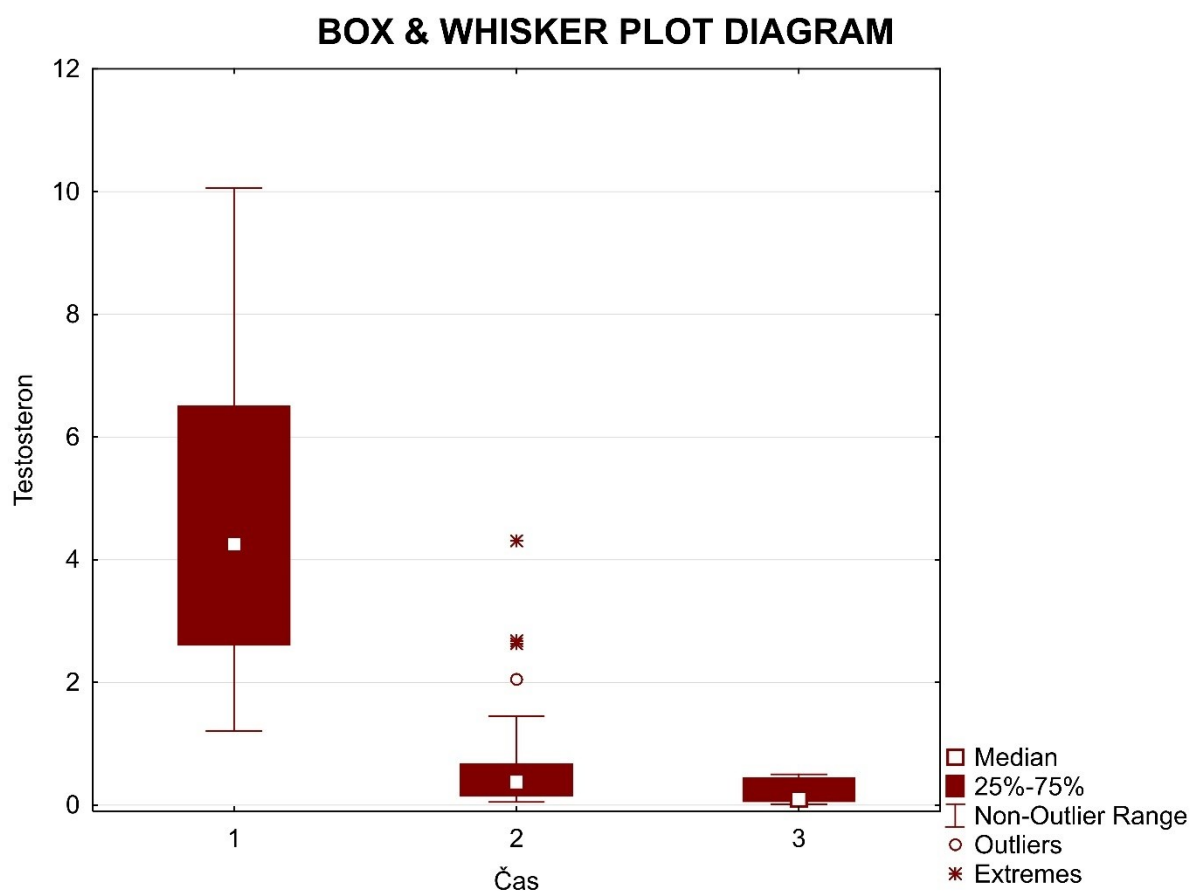
Graf 22, vývoj hodnot Progesteronu u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku

V době aplikace gonadorelinu byla patrná nejnižší hodnota progesteronu. Rozdíl změny v obou intervalech nebyl významný ($p=0,94$).

6.4.10. Testosteron

Vyšetření	vstupní vyš.	kontrolní vyš.	v době operace
průměr (nmol/l)	4,65	0,69	0,19
minimální hodnota (nmol/l)	1,21	0,05	0,01
maximální hodnota (nmol/l)	10,06	4,31	0,5
směrodatná odchylka	2,49	0,93	0,18
medián (nmol/l)	4,26	0,38	0,1

Tab. 27, Srovnání hladiny Testosteronu u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku



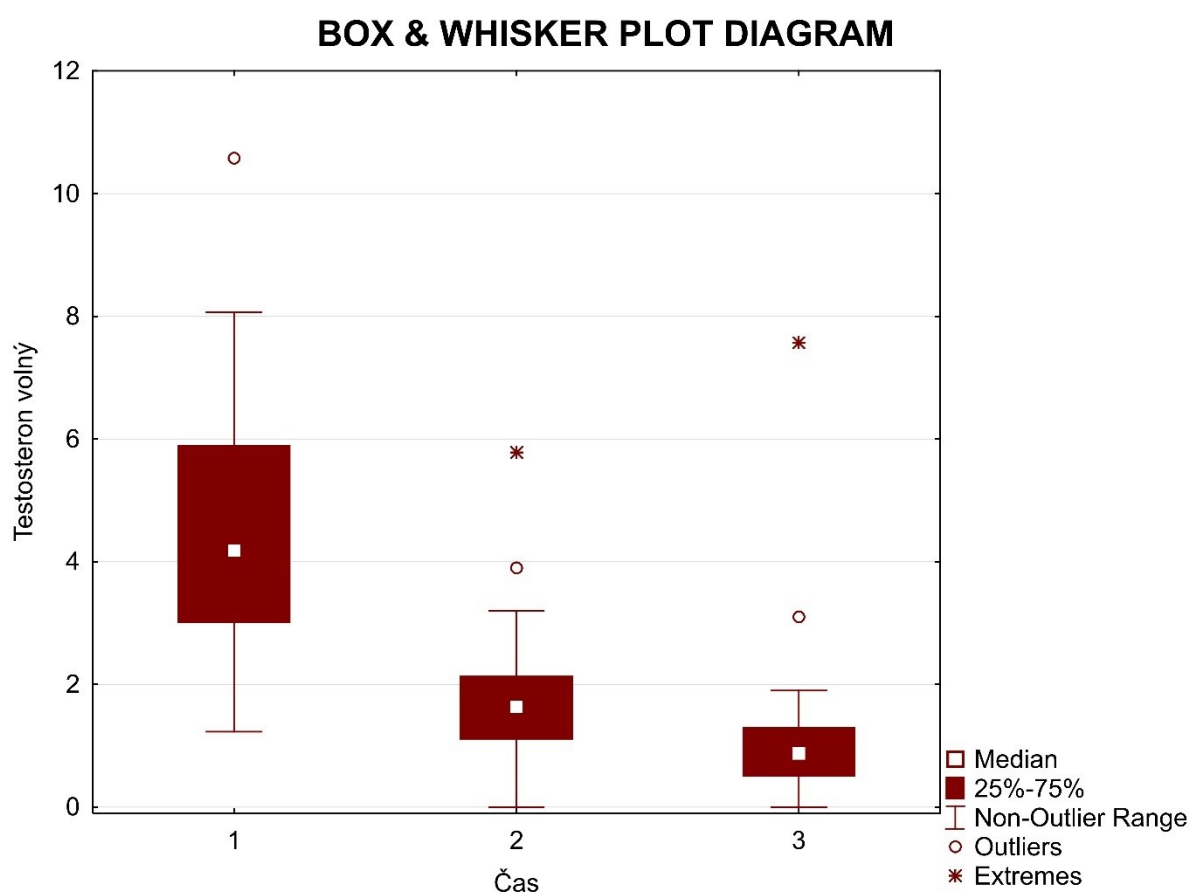
Graf 23, vývoj hodnot Testosteronu u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku

Významný pokles testosteronu jsme zaznamenali pouze v prvním intervalu ($p < 0,0001$). **Hladina testosteronu při aplikaci gonadorelinu je významně nižší než při fyziologické stimulaci v době minipuberty.**

6.4.11. volný Testosteron

vyšetření	vstupní vyš.	kontrolní vyš.	v době operace
průměr (pmol/l)	4,42	1,69	1,13
minimální hodnota (pmol/l)	1,228	0,001	0,001
maximální hodnota (pmol/l)	10,58	5,78	7,57
směrodatná odchylka	2,1	1,19	1,31
medián (pmol/l)	4,18	1,64	0,88

Tab. 28, Srovnání hladiny Progesteronu u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku



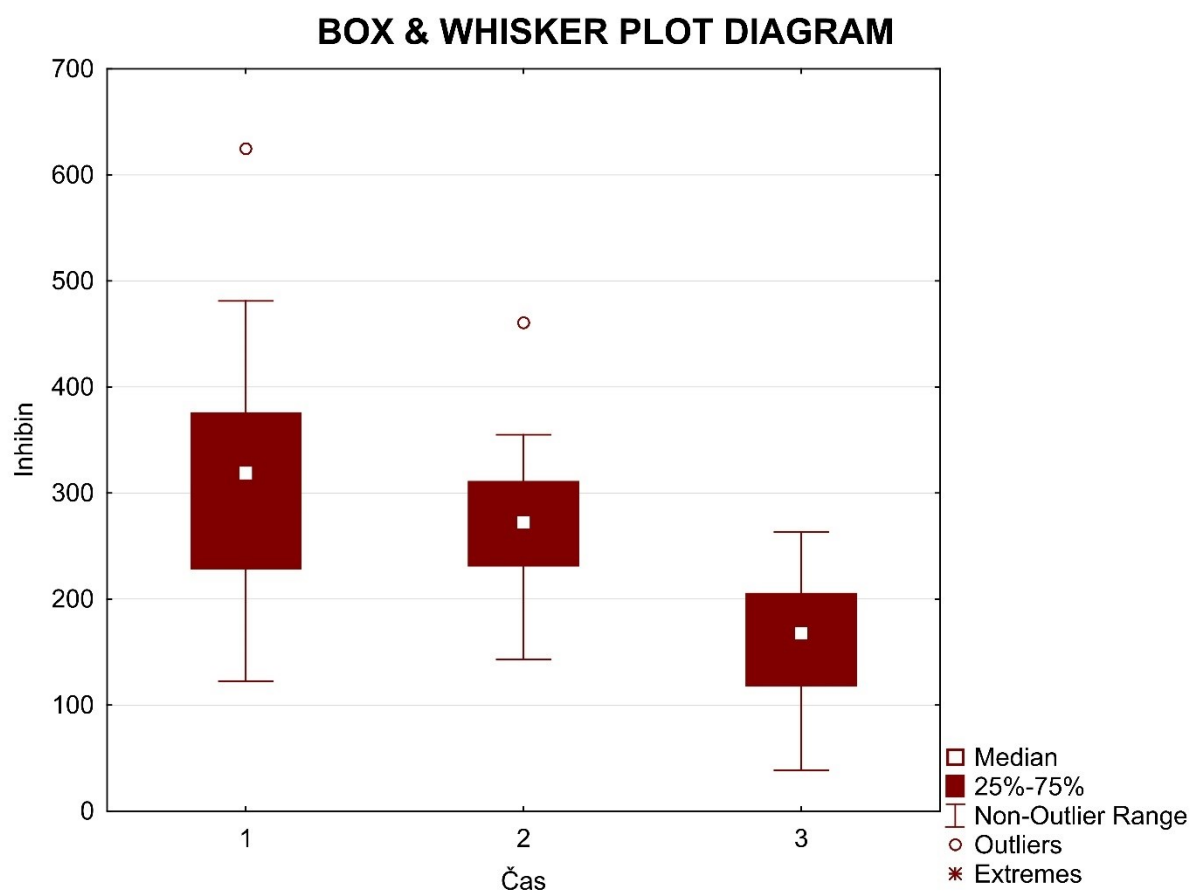
Graf 24, vývoj hodnot volného Testosteronu u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku

Významný pokles volného testosteronu jsme zaznamenali pouze v prvním intervalu ($p < 0,0001$). **Hladina volného testosteronu při aplikaci gonadorelinu je významně nižší než při fyziologické stimulaci v době minipuberty.**

6.4.12. Inhibin B

vyšetření	vstupní vyš.	kontrolní vyš.	v době operace
průměr (pg/ml)	316,8	260,36	162,68
minimální hodnota (pg/ml)	122,8	143,1	38,5
maximální hodnota (pg/ml)	624,7	460,8	263,4
směrodatná odchylka	102,49	74,78	54,8
medián (pg/ml)	319	272,55	168

Tab. 29, Srovnání hladiny Inhibinu B u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku



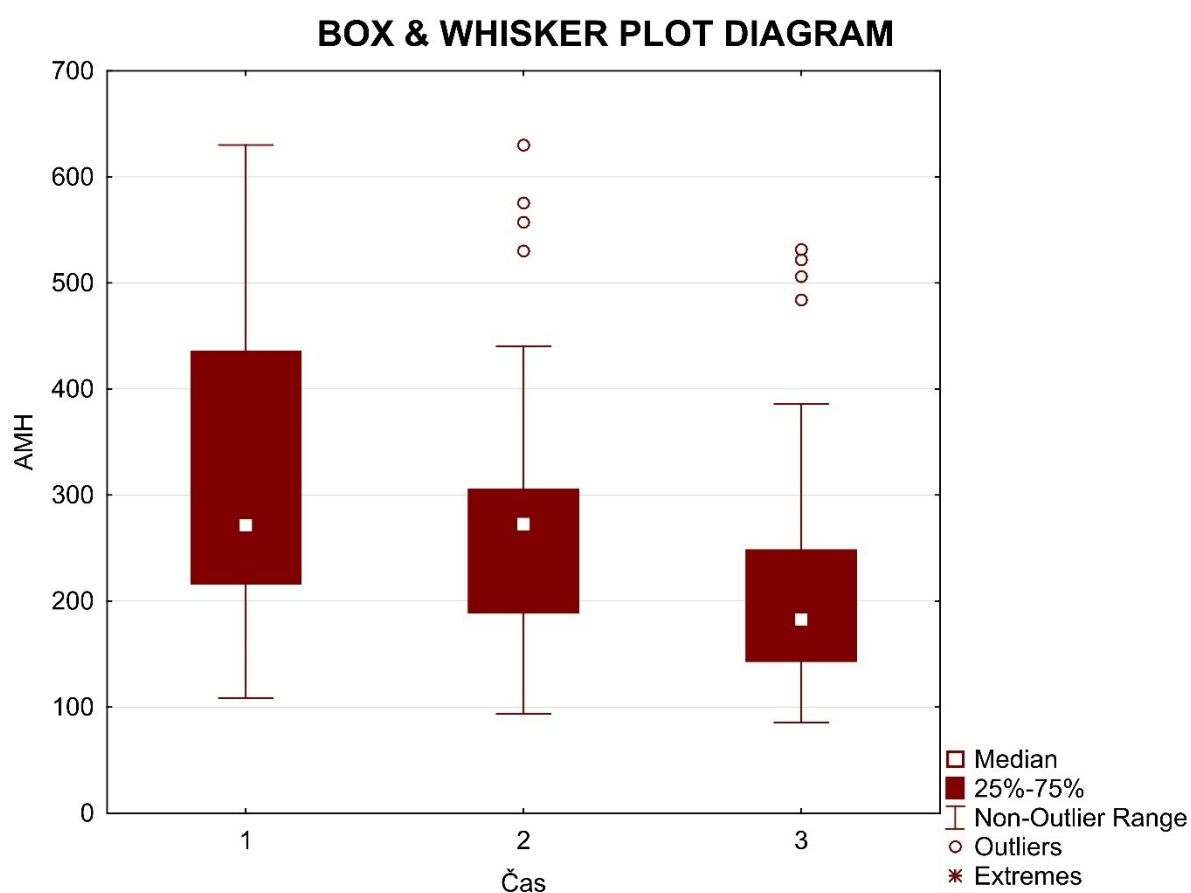
Graf 25, vývoj hodnot Inhibinu B u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku

Rozdíl změny v intervalech měření byl významný ($p=0,035$), naměřené hodnoty v době terapeutické stimulace jsou blíže hladinám v době minipuberty.

6.4.13. AMH

vyšetření	vstupní vyš.	kontrolní vyš.	v době operace
průměr (ng/ml)	316,43	283,16	224,1
minimální hodnota (ng/ml)	108,6	93,8	85,7
maximální hodnota (ng/ml)	630	630	531,6
směrodatná odchylka	145,7	133,4	122,9
medián (ng/ml)	271,6	272,8	182,8

Tab. 30, Srovnání hladiny AMH (Antimülleriánský hormon) u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku



Graf 26, vývoj hodnot AMH u unilaterálního kryptorchizmu při podané hormonální stimulaci v 6 měsících věku

V průběhu prvního roku došlo k poklesu AMH v krevním séru. Rozdíl změny mezi intervaly nebyl významný ($p=0,48$).

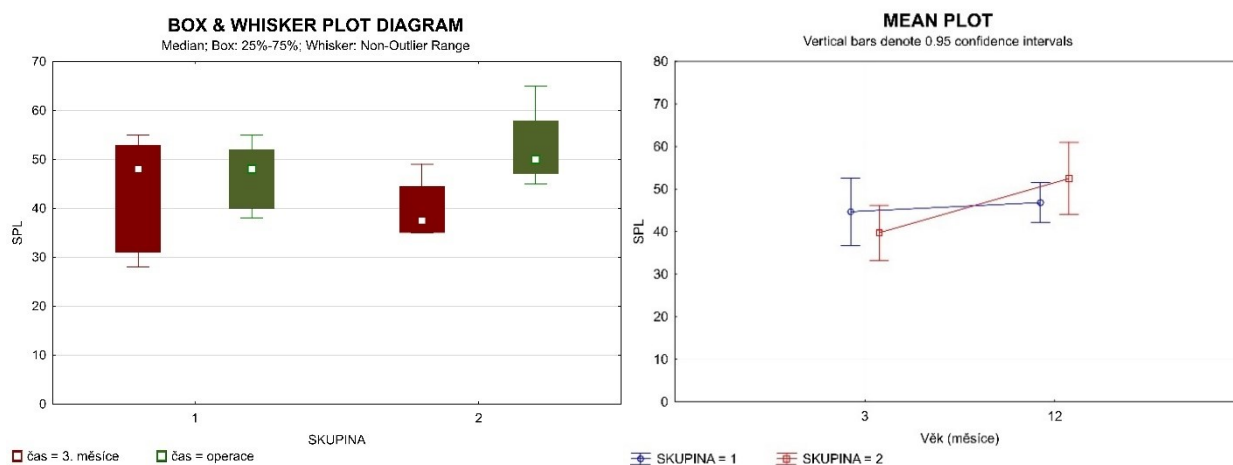
6.5. Bilaterálně nesestouplé varle – vývoj nálezu

V této analýze jsme statisticky hodnotili malý soubor 11 dětí s bilaterálně nesestouplým varletem. Anatomický a hormonální nález byl hodnocen v době vstupního vyšetření a v době operace. Skupina 1 (n=7), kterým byla podána neoadjuvantní hormonální léčba ve věku 6 měsíců (věk při vstupním vyšetření průměrně 3,1 měsíců, 3-3,5; průměrný věk v době operace 11,9 měsíců, 10-16). Skupina 2 (n=4) bez hormonální léčby (věk při vstupním vyšetření průměrně 2,9 měsíců, 2,5-3; průměrný věk v době operace 13,2 měsíců, 10-16). Statisticky jsme testovali rozdíl změny hodnot parametru v čase v porovnání obou skupin.

6.5.1. Délka nataženého penisu

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměr (mm)	44,7	46,86	39,8	52,5
minimální hodnota (mm)	28	38	35	45
maximální hodnota (mm)	55	55	49	65
směrodatná odchylka	10,73	6,23	6,60	8,70
medián (mm)	48	48	37,5	50

Tab. 31, Srovnání SPL (délka nataženého penisu) u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



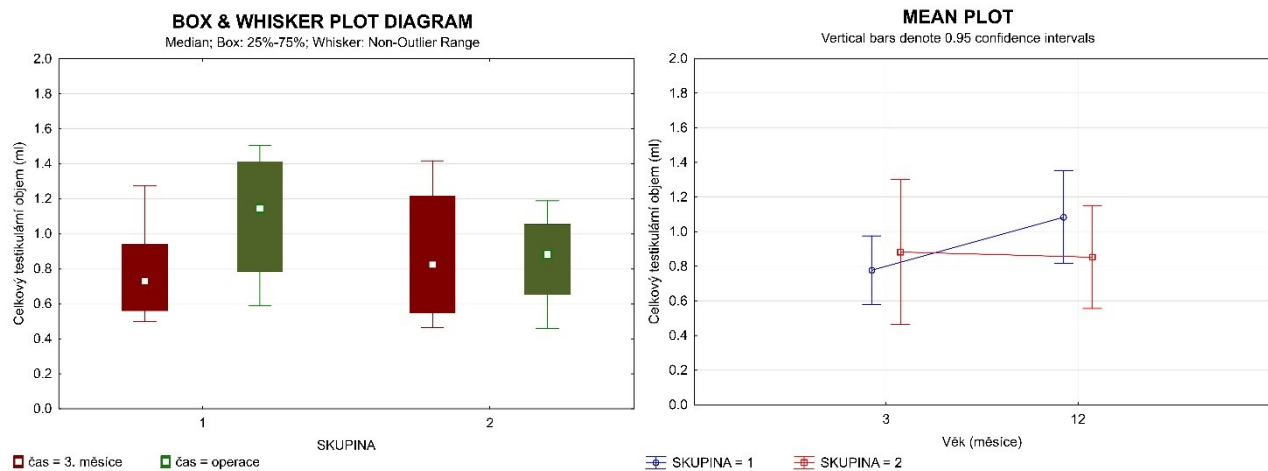
Graf 27, vývoj SPL u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

V obou skupinách došlo k nárůstu délky penisu, rozdíl vývoje trendu nebyl mezi oběma skupinami významný ($p=0,15$). Podání hormonální stimulace v 6 měsících neovlivnilo velikost penisu měřenou v době operace.

6.5.2. Celkový objem testikulární tkáně

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměr (ml)	0,78	1,08	0,78	0,85
minimální hodnota (ml)	0,5	0,59	0,50	0,46
maximální hodnota (ml)	1,27	1,51	1,27	1,19
směrodatná odchylka	0,27	0,36	0,27	0,30
medián (ml)	0,73	1,15	0,73	0,88

Tab. 32, Srovnání celkového objemu testikulární tkáně u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



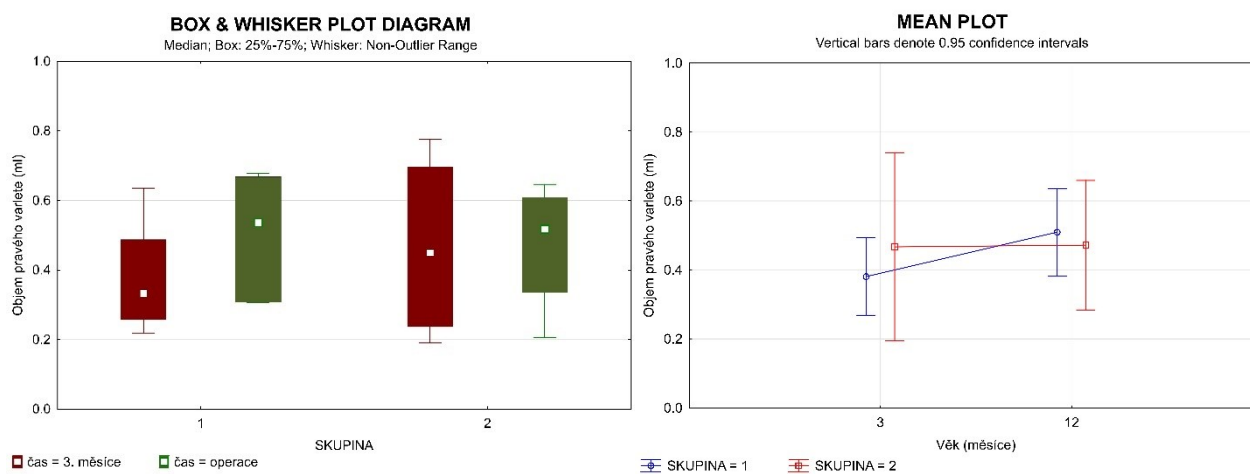
Graf 28, vývoj celkového objemu testikulární tkáně u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

U obou skupin jsme zaznamenali nárůst celkového objemu testikulární tkáně, ani pro jednu skupinu nebyla změna statisticky významná. Test rozdílu změny trendu v porovnání obou skupin byl bez významného nálezu ($p=0,16$).

6.5.2. Objem pravého varlete

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměr (ml)	0,38	0,51	0,47	0,47
minimální hodnota (ml)	0,22	0,31	0,19	0,21
maximální hodnota (ml)	0,64	0,68	0,78	0,65
směrodatná odchylka	0,15	0,17	0,28	0,19
medián (ml)	0,33	0,54	0,45	0,52

Tab. 33, Srovnání objemu pravého varlete u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



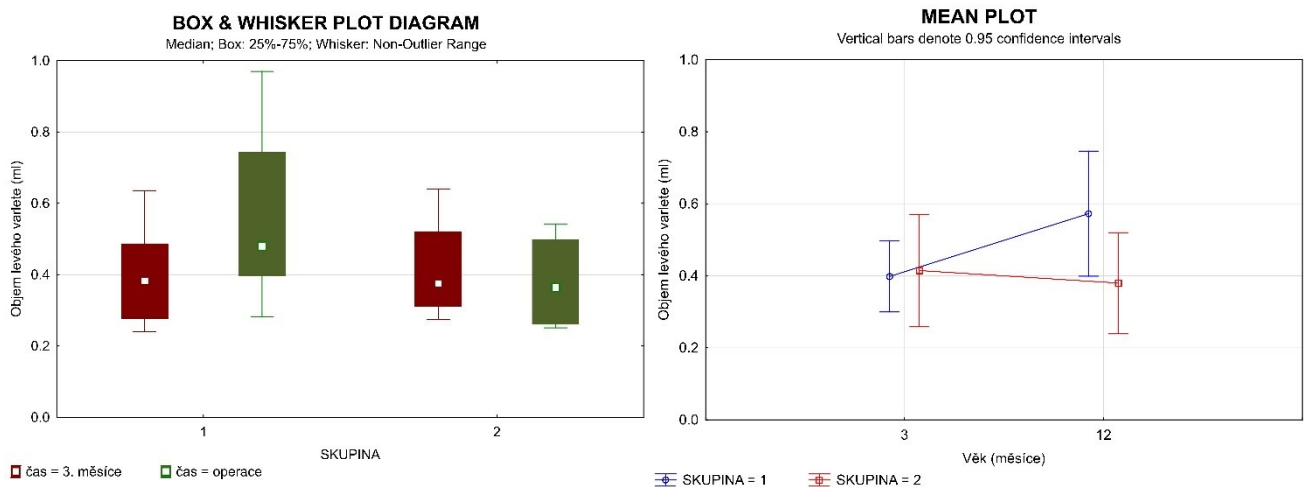
Graf 29, vývoj objemu pravého varlete u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

Nárůst objemu varlete v první skupině nebyl významný ($p=0,29$). Mezi skupinami jsme neprokázali významný rozdíl změny trendu ($p=0,41$).

6.5.4. Objem levého varlete

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměr (ml)	0,40	0,57	0,42	0,38
minimální hodnota (ml)	0,24	0,27	0,27	0,25
maximální hodnota (ml)	0,64	0,97	0,64	0,54
směrodatná odchylka	0,13	0,24	0,16	0,14
medián (ml)	0,38	0,48	0,38	0,37

Tab. 34, Srovnání objemu levého varlete u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předléčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



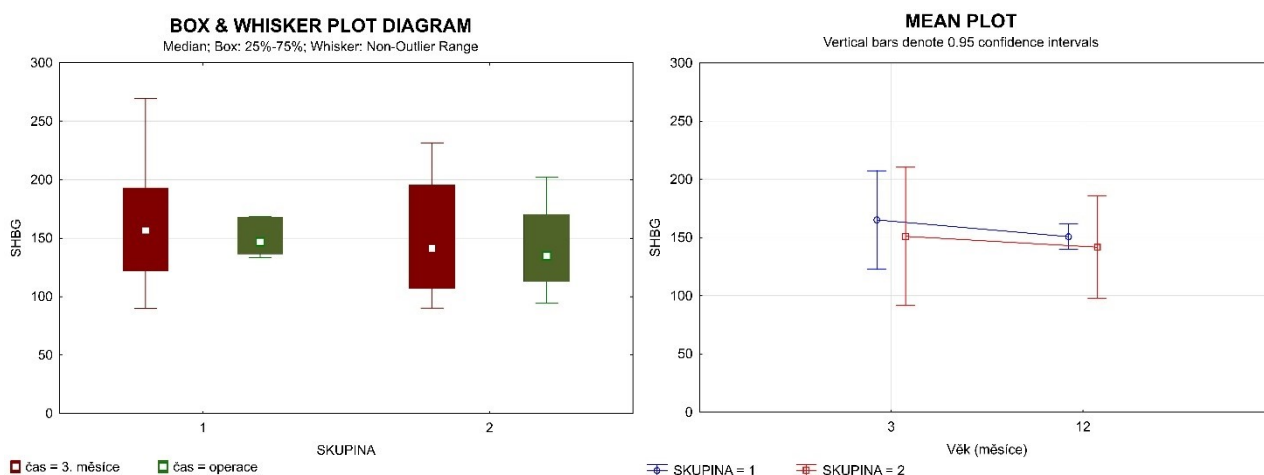
Graf 30, vývoj objemu levého varlete u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předléčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

Ani v jedné skupině nedošlo k významné změně objemu levého varlete. V rámci porovnání vývoje trendu jsme nenalezli významný rozdíl mezi skupinami ($p=0,097$).

6.5.5. SHBG

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměr (nmol/l)	165,17	150,74	151,08	141,65
minimální hodnota (nmol/l)	90,0	133,2	90,3	94,3
maximální hodnota (nmol/l)	269,3	168,3	231,2	202,3
směrodatná odchylka	56,86	14,73	60,49	44,84
medián (nmol/l)	156,5	147	141,4	135

Tab. 35, Srovnání hladiny SHBG (Sex hormone binding globuline) u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



Graf 31, vývoj hladin SHBG u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

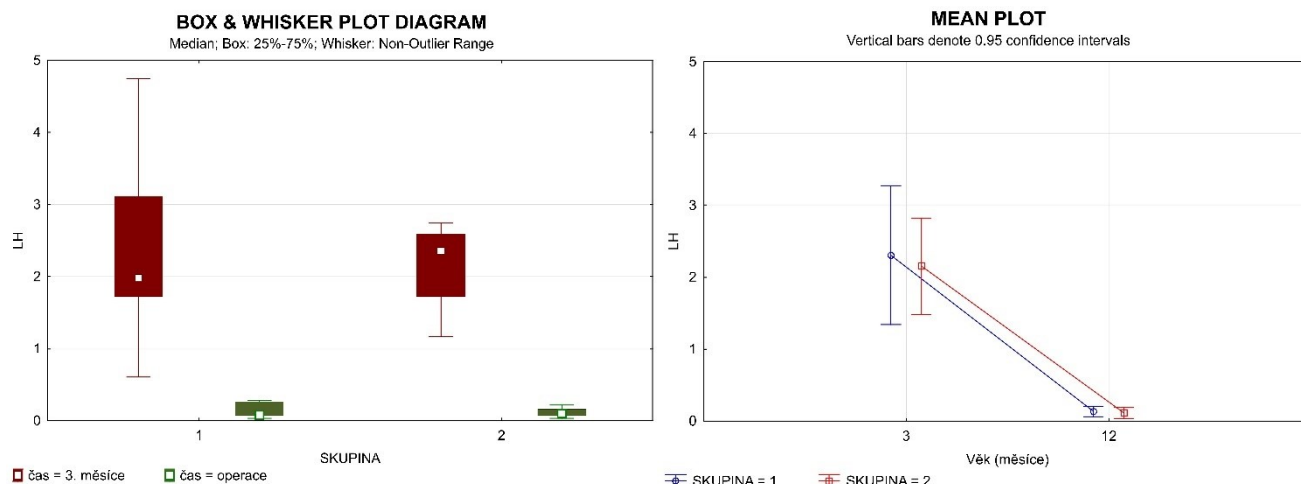
Pokles hladiny hormonu v intervalu mezi vstupním vyšetřením a dobou operace nebyl významný ani v jedné skupině ($p=1,0$ resp. $0,63$).

Neprokázali jsme významný rozdíl ve vývoji parametru mezi skupinami ($p=0,79$)

6.5.6. LH

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměr (IU/l)	2,31	0,13	2,16	0,11
minimální hodnota (IU/l)	0,61	0,03	1,17	0,03
maximální hodnota (IU/l)	4,75	0,28	2,74	0,22
směrodatná odchylka	1,3	0,1	0,69	0,08
medián (IU/l)	1,98	0,08	2,36	0,10

Tab. 36, Srovnání hladiny LH (luteinizační hormon) u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



Graf 32, vývoj hladin LH u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

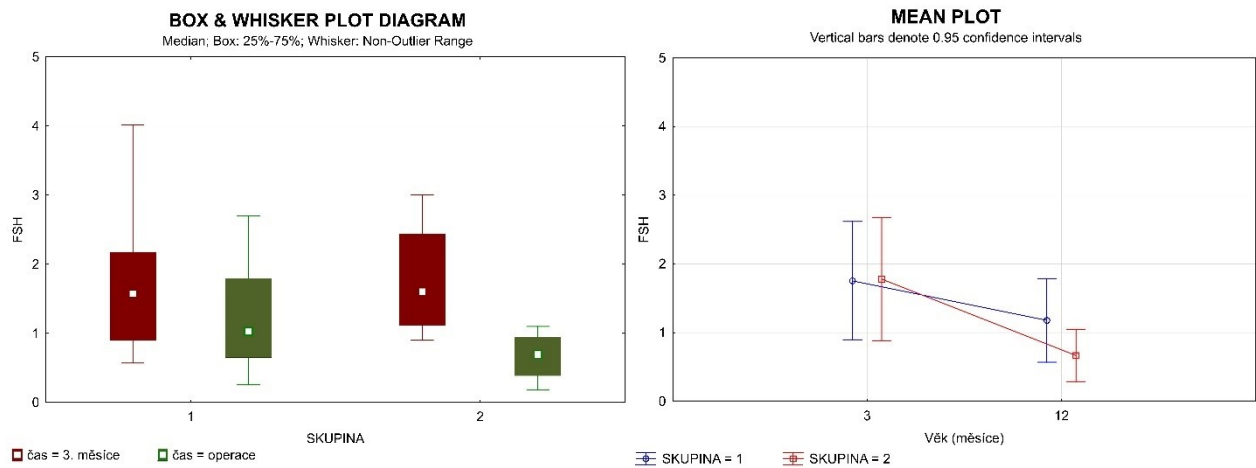
Hladiny LH ve sledovaném intervalu poklesly, statistickou významnost se ale podařilo prokázat jen pro skupinu 1 ($p=0,02$), ve skupině 2 bylo příliš málo pacientů k průkazu rozdílu na hladině významnosti, ačkoliv absolutní hodnoty se jeví zřejmé.

Neprokázali jsme rozdíl změny parametru mezi skupinami ($p= 0,79$).

6.5.7. FSH

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměr (IU/l)	1,76	1,18	1,78	0,67
minimální hodnota (IU/l)	0,57	0,26	0,90	0,18
maximální hodnota (IU/l)	4,02	1,7	3,01	1,1
směrodatná odchylka	1,17	0,82	0,91	0,18
medián (IU/l)	1,58	1,03	1,61	1,10

Tab. 37, Srovnání hladiny FSH (folikuly stimulační hormon) u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předléčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



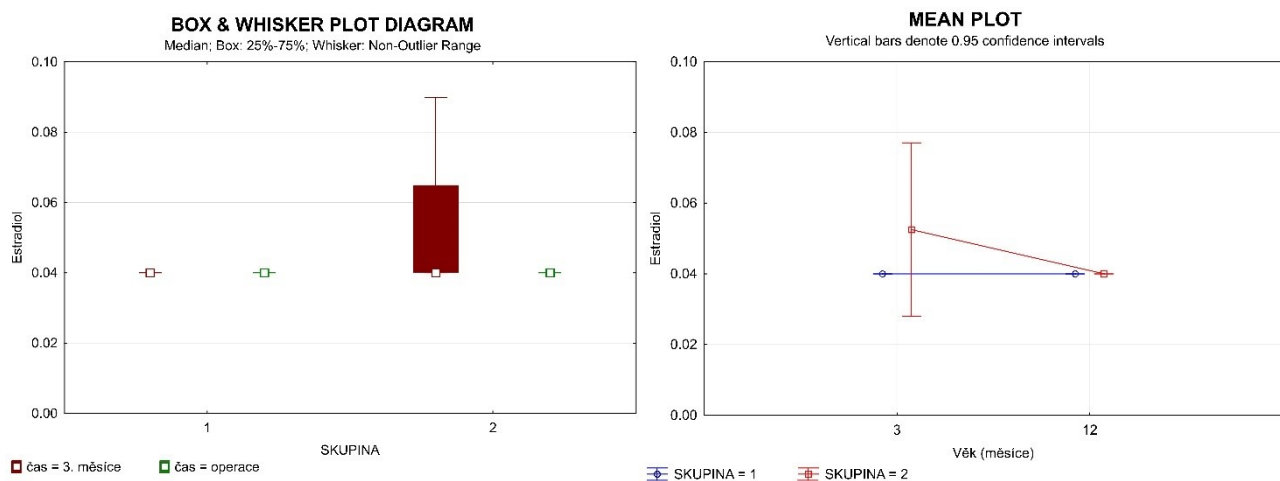
Graf 33, vývoj hladin FSH u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předléčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

V obou skupinách došlo k poklesu hodnoty FSH, rozdíl změny mezi skupinami však nebyl významný ($p=0,32$).

6.5.8. Estradiol

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměr (nmol/l)	0,04	0,04	0,05	0,04
minimální hodnota (nmol/l)	0,04	0,04	0,04	0,04
maximální hodnota (nmol/l)	0,04	0,04	0,09	0,04
směrodatná odchylka	0	0	0,03	0
medián (nmol/l)	0,04	0,04	0,04	0,04

Tab. 38, Srovnání hladiny Estradiolu u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



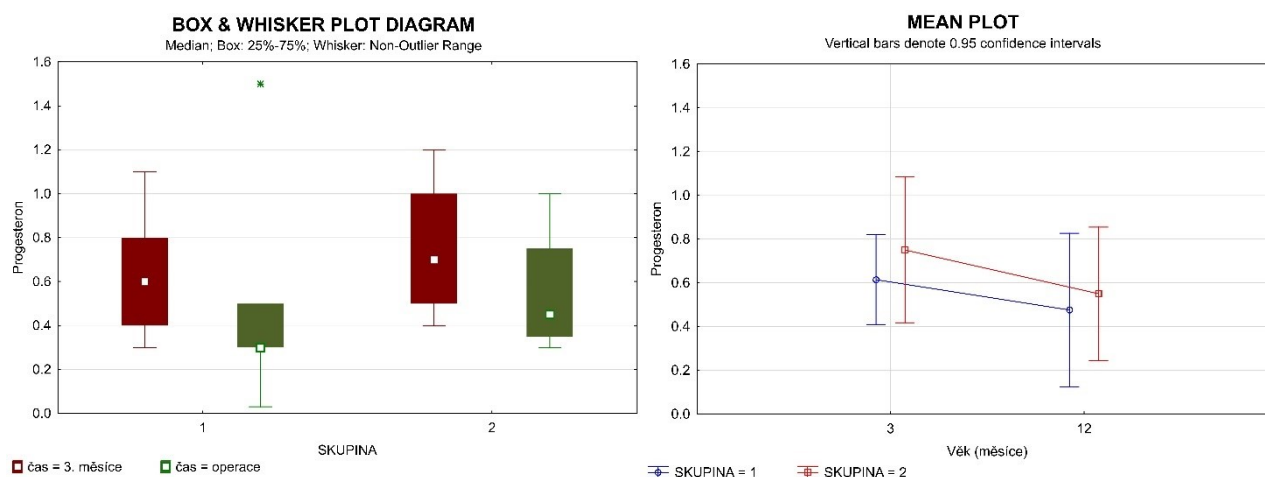
Graf 34, vývoj hladin Estradiolu u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

Hladiny estradiolu byly neměřitelné v celém průběhu sledování. Jediná hodnota se odlišuje od ostatních, což je způsobeno změnou laboratorní dolní referenční meze. Bez průkazu rozdílu mezi skupinami ($p=0,36$).

6.5.9. Progesteron

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměr (nmol/l)	0,61	0,48	0,75	0,55
minimální hodnota (nmol/l)	0,30	0,03	0,40	0,30
maximální hodnota (nmol/l)	1,10	1,50	1,20	1,00
směrodatná odchylka	0,28	0,47	0,34	0,31
medián (nmol/l)	0,60	0,30	0,70	0,45

Tab. 39, Srovnání hladiny Progesteronu u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předléčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



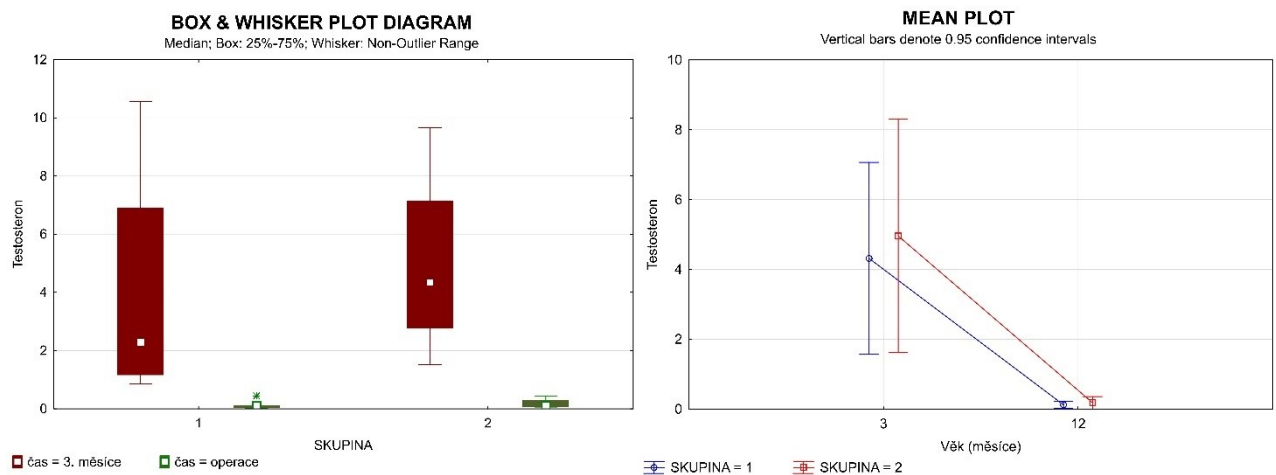
Graf 35, vývoj hladin Progesteronu u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předléčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

V obou skupinách došlo k poklesu hormonální hladiny, v obou případech nevýznamně. Při porovnání trendu poklesu mezi skupinami bez průkazu významného rozdílu v parametru ($p=0,96$).

6.5.10. Testosteron

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměr (nmol/l)	4,32	0,13	4,96	0,18
minimální hodnota (nmol/l)	0,85	0,01	1,51	0,06
maximální hodnota (nmol/l)	10,56	0,45	9,65	0,45
směrodatná odchylka	3,71	0,15	3,41	0,18
medián (nmol/l)	2,29	0,10	4,96	0,11

Tab. 40, Srovnání hladiny Testosteronu u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předléčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



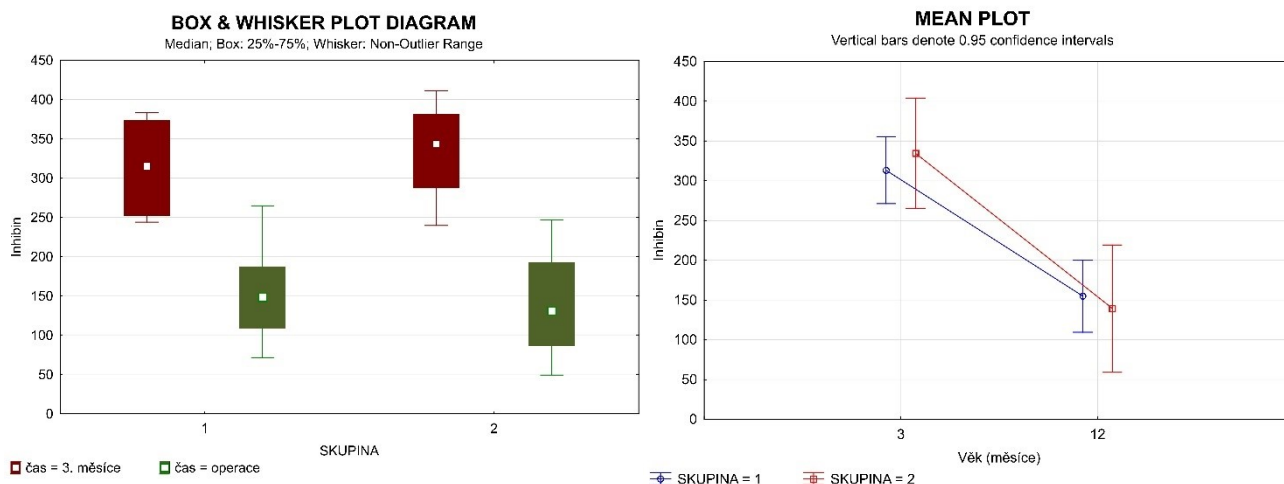
Graf 36, vývoj hladin Testosteronu u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předléčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

Ačkoliv je z absolutních hodnot patrné, že došlo v obou případech k významnému poklesu hladiny testosteronu, pro skupinu 2 se to nepodařilo prokázat z důvodu malého počtu pacientů. Trend vývoje hladiny testosteronu obou skupin bez průkazu rozdílu mezi měřeními ($p=0,79$).

6.5.11. Inhibin B

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměr (pg/ml)	313,21	154,87	334,53	139,55
minimální hodnota (pg/ml)	244	71,5	239,8	49,2
maximální hodnota (pg/ml)	383,4	264,8	411,4	246,8
směrodatná odchylka	56,61	61,28	71,14	81,52
medián (pg/ml)	315	148,5	343,5	131,1

Tab. 41, Srovnání hladiny Inhibinu B u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



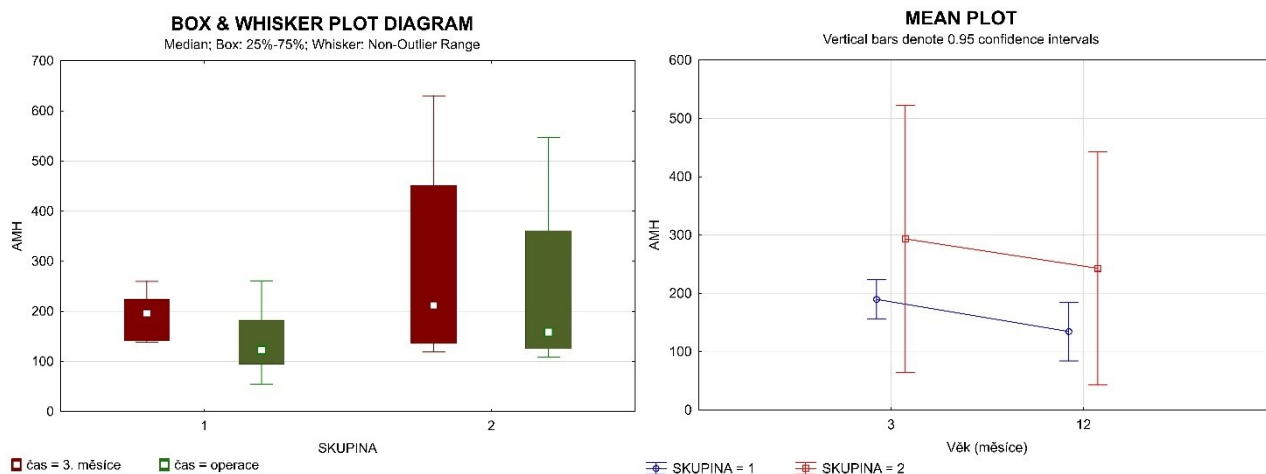
Graf 37, vývoj hladin Inhibinu B u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

V obou skupinách došlo k poklesu hodnoty Inhibinu B, z důvodu malého počtu pacientů ve skupině 2 se podařilo prokázat statistickou významnost jen ve skupině 1 ($p=0,02$). trend poklesu bez průkazu rozdílu mezi skupinami ($p=0,16$).

6.5.12. AMH

skupina	1		2	
	vstupní vyš.	operace	vstupní vyš.	operace
průměr (ng/ml)	189,74	134,69	293,43	243,08
minimální hodnota (ng/ml)	137,8	53,9	119,5	108,9
maximální hodnota (ng/ml)	259,7	260,3	630	546,7
směrodatná odchylka	45,38	68,03	233,92	204,18
medián (ng/ml)	196,5	122,5	212,1	158,4

Tab. 42, Srovnání hladiny AMH u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci



Graf 38, vývoj hladin AMH u bilaterálního kryptorchizmu; skupina 1 předlčena hormonální stimulací, skupina 2 indikována přímo k operaci

V obou skupinách došlo k poklesu hladiny AMH, ve skupině 1 se jednalo o významnou změnu hodnoty v čase ($p=0,03$). Nezaznamenali jsme významný rozdíl v trendu poklesu mezi skupinami ($p=0,93$).

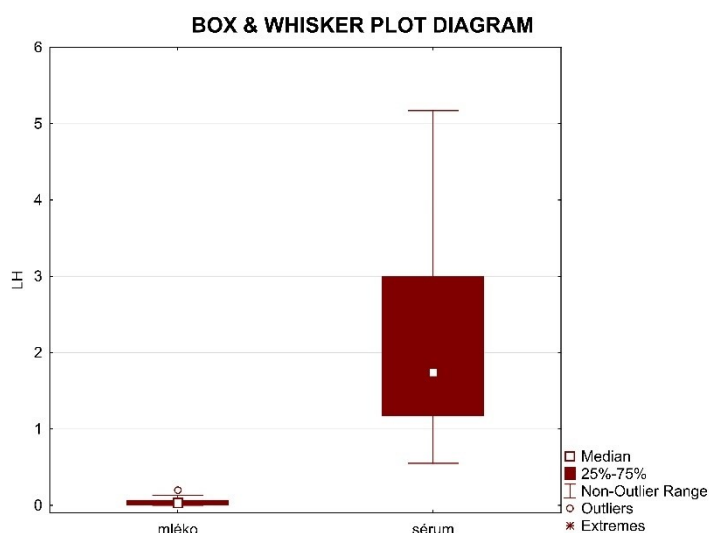
6.6. Analýza mateřského mléka – studijní skupina

Ze všech odebraných vzorků mateřského mléka bylo analyzováno hormonální spektrum u 51 odběrů od matek chlapců s jednostranným kryptorchizmem. Z hormonů byly testovány hladiny LH, FSH, Estradiolu a Progesteronu. Odběr mléka proběhl během vstupního vyšetření v průměrném věku 2,9 měsíce, hormonální hladiny v mléce byly porovnány s hodnotou daného hormonu v séru kojenných dětí příslušných matek ze stejného vyšetření. Statisticky byl porovnán vzájemný vztah.

6.6.1. LH

vzorek	mléko	sérum
průměr (IU/l)	0,04	2,08
minimální hodnota (IU/l)	0	0,55
maximální hodnota (IU/l)	0,2	5,17
směrodatná odchylka	0,04	1,05
medián (IU/l)	0,03	1,74

Tab. 43, Porovnání hladiny LH (luteinizační hormon) v mateřském mléce a krevním séru příslušných chlapců s nesestouplým varletem



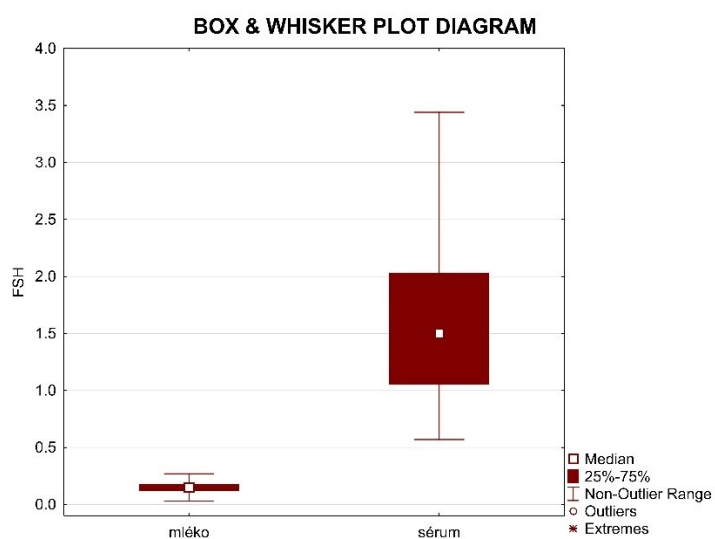
Graf 39, porovnání hladin LH v mateřském mléce a v séru chlapců s kryptorchizmem

Na základě výsledků testů o rozdílu nebyla prokázána vzájemná korelace mezi parametry ($p=0,98$)

6.6.2. FSH

vzorek	mléko	sérum
průměr (IU/l)	0,15	1,59
minimální hodnota (IU/l)	0,03	0,57
maximální hodnota (IU/l)	0,27	3,44
směrodatná odchylka	0,05	0,68
medián (IU/l)	0,15	1,5

Tab. 44, Porovnání hladiny FSH (folikuly stimulační hormon) v mateřském mléce a krevním séru příslušných chlapců s nesestouplým varletem



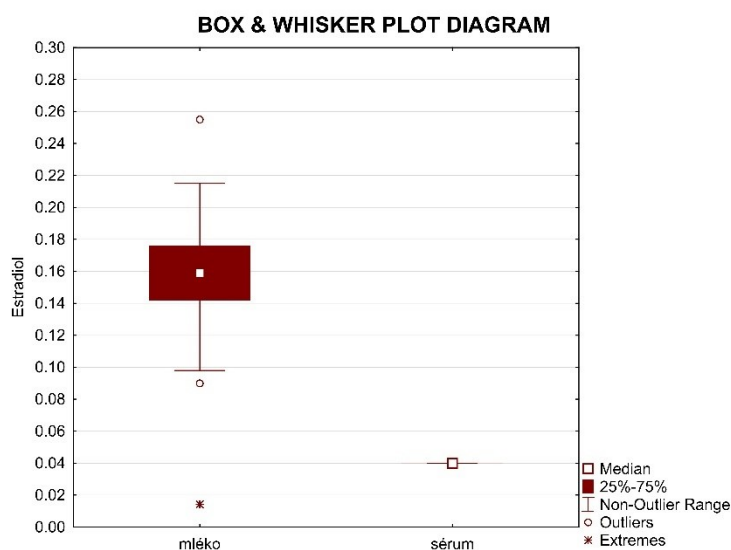
Graf 40, porovnání hladin FSH v mateřském mléce a v séru chlapců s kryptorchizmem

Testem o rozdílu mezi parametry jsme neprokázali vzájemnou korelaci ($p=0,91$)

6.6.3. Estradiol

vzorek	mléko	sérum
průměr (nmol/l)	0,16	0,04
minimální hodnota (nmol/l)	0,01	0,04
maximální hodnota (nmol/l)	0,26	0,04
směrodatná odchylka	0,04	0
medián (nmol/l)	0,16	0,04

Tab. 45, Porovnání hladiny Estradiolu v mateřském mléce a krevním séru příslušných chlapců s nesestoupným varletem



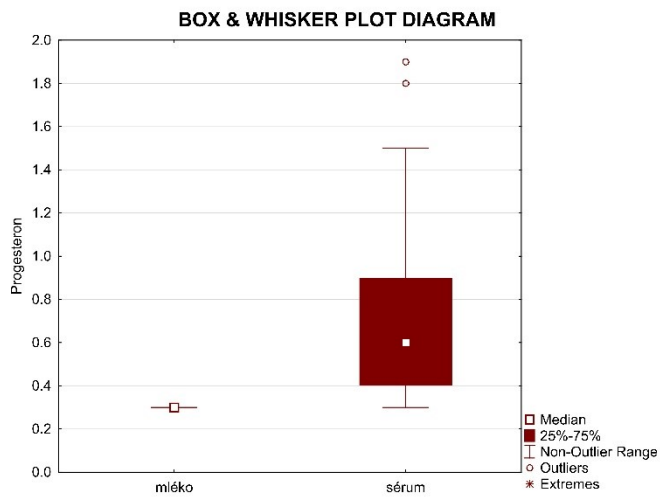
Graf 41, porovnání hladin Estradiolu v mateřském mléce a v séru chlapců s kryptorchizmem

Dle testu Pearsonova korelačního koeficientu je tento parametr nehodnotitelný.

6.6.4. Progesteron

vzorek	mléko	sérum
průměr (nmol/l)	0,3	0,73
minimální hodnota (nmol/l)	0,3	0,3
maximální hodnota (nmol/l)	0,3	1,9
směrodatná odchylka	0	0,39
medián (nmol/l)	0,3	0,6

Tab. 46, Porovnání hladiny Progesteronu v mateřském mléce a krevním séru příslušných chlapců s nesestouplým varletem



Graf 42, porovnání hladin Estradiolu v mateřském mléce a v séru chlapců s kryptorchizmem

Dle testu Pearsonova korelačního koeficientu je tento parametr nehodnotitelný.

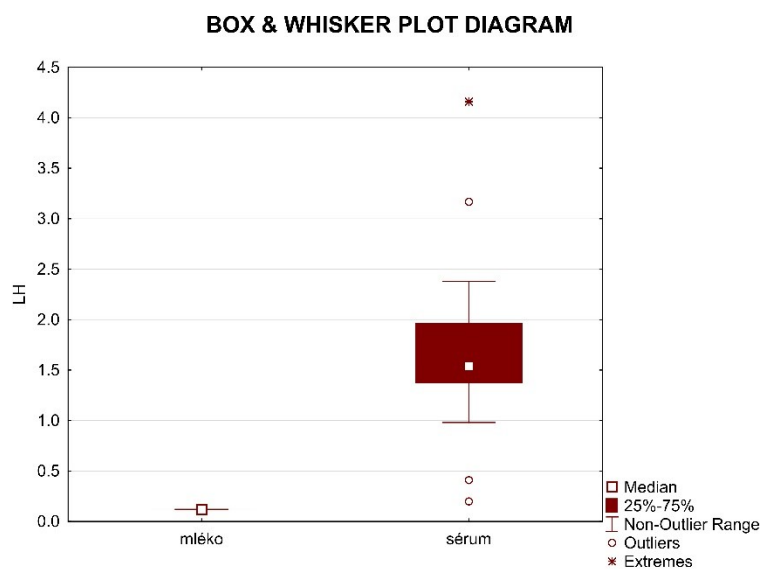
6.7. Analýza mateřského mléka – kontrolní skupina

Testovány byly hormonální hladiny v mateřském mléce matek zdravých chlapců z kontrolní skupiny. Celkem jsme testovali 21 vzorků, průměrný věk dítěte v době odběru 2,8 měsíce. Výsledky byly hodnoceny na vzájemnou korelaci hodnot mezi oběma druhy analyzovaného materiálu.

6.7.1. LH

vzorek	mléko	sérum
průměr (IU/l)	0,12	1,70
minimální hodnota (IU/l)	0,12	0,20
maximální hodnota (IU/l)	0,12	4,16
směrodatná odchylka	0	0,86
medián (IU/l)	0,12	1,54

Tab. 47, Porovnání hladiny LH (luteinizační hormon) v mateřském mléce a krevním séru příslušných zdravých chlapců z kontrolní skupiny



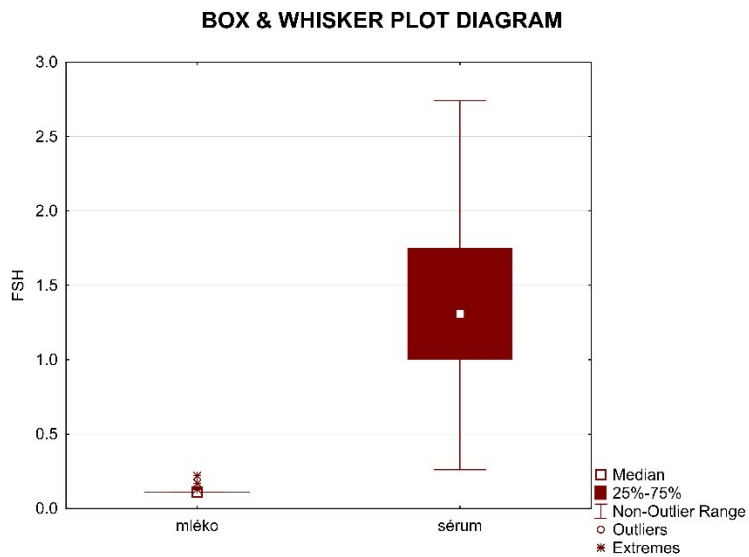
Graf 43, porovnání hladin LH v mateřském mléce a v séru zdravých chlapců z kontrolní skupiny

Dle Pearsonova korelačního koeficientu i testu lineární regrese je parametr nehodnotitelný.

6.7.2. FSH

vzorek	mléko	sérum
průměr (IU/l)	0,12	1,39
minimální hodnota (IU/l)	0,11	0,26
maximální hodnota (IU/l)	0,22	2,74
směrodatná odchylka	0,03	0,67
medián (IU/l)	0,11	1,31

Tab. 48, Porovnání hladiny FSH (folikuly stimulační hormon) v mateřském mléce a krevním séru příslušných zdravých chlapců z kontrolní skupiny



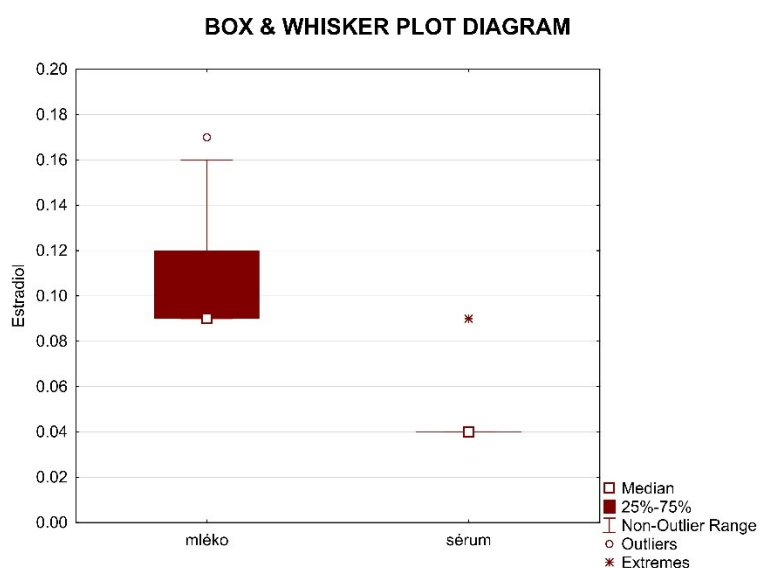
Graf 44, porovnání hladin FSH v mateřském mléce a v séru zdravých chlapců z kontrolní skupiny

Nebyla prokázána vzájemná korelace mezi parametry ($p=0,21$).

6.7.3. Estradiol

vzorek	mléko	sérum
průměr (nmol/l)	0,11	0,05
minimální hodnota (nmol/l)	0,09	0,04
maximální hodnota (nmol/l)	0,17	0,09
směrodatná odchylka	0,03	0,02
medián (nmol/)	0,09	0,04

Tab. 49, Porovnání hladiny Estradiolu v mateřském mléce a krevním séru příslušných zdravých chlapců z kontrolní skupiny



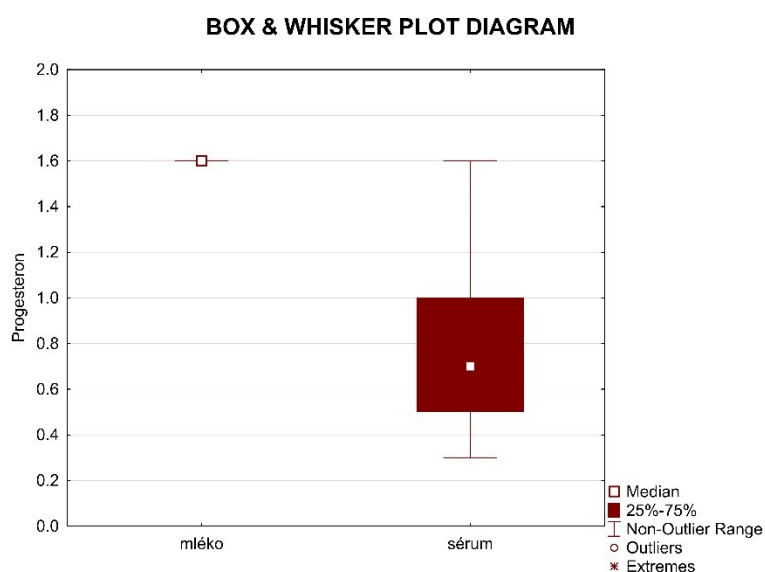
Graf 45, porovnání hladin Estradiolu v mateřském mléce a v séru zdravých chlapců z kontrolní skupiny

Neprokázali jsme vzájemnou korelaci mezi parametry ($p=0,54$). Hodnocení je navíc komplikováno změnou dolní referenční meze dobou testování krevního vzorku a vzorku mléka.

6.7.4. Progesteron

vzorek	mléko	sérum
průměr (nmol/l)	1,60	0,82
minimální hodnota (nmol/l)	1,60	0,30
maximální hodnota (nmol/l)	1,60	1,60
směrodatná odchylka	0,49	0,49
medián (nmol/l)	1,60	0,70

Tab. 50, Porovnání hladiny Progesteronu v mateřském mléce a krevním séru příslušných zdravých chlapců z kontrolní skupiny



Graf 46, porovnání hladin Progesteronu v mateřském mléce a v séru zdravých chlapců z kontrolní skupiny

Parametr je dle použitých statistických testů nehodnotitelný. V případě laboratorního hodnocení progesteronu došlo ke změně dolní referenční meze mezi testováním obou vzorků.

7. Hodnocení výsledků a diskuse

Hlavním cílem naší práce bylo prokázat či vyvrátit údaje o insuficientním průběhu minipuberty u dětí s kryptorchizmem. Za tím účelem bylo provedeno fyzikální, ultrazvukové a hormonální vyšetření v období minipuberty (2,5-3 měsíce po narození) – vstupní vyšetření.

Srovnáním nálezů u unilaterálního kryptorchizmu, bilaterálního kryptorchizmu a kontrolní skupiny během tohoto vstupního vyšetření jsme zjistili **významně menší celkový testikulární objem u bilaterálního kryptorchizmu** ve srovnání jak se skupinou unilaterálního kryptorchizmu ($p=0,04$), tak s kontrolní skupinou ($p=0,01$). Z dalších anatomických parametrů jsme našli významně **kratší délku nataženého penisu v kontrolní skupině zdravých chlapců** v porovnání se skupinou chlapců s unilaterálním kryptorchizmem ($p=0,001$).

V tomto období jsme zjistili významně **vyšší hladiny SHBG** ($p=0,003$) a **volného testosteronu** ($p=0,01$) **u unilaterálního kryptorchizmu** při srovnání s kontrolní skupinou, což by při nevýznamně vyšší hladině LH a testosteronu mohlo být projevem vyšší aktivace hypothalamo-hypofýzo-testikulární osy.

Dále jsme v době minipuberty našli významně **nižší hodnotu AMH ve skupině bilaterálního kryptorchizmu** při srovnání s kontrolami ($p=0,01$), zároveň také v porovnání se skupinou s unilaterálním kryptorchizmem ($p=0,01$).

Předpokládáme, že příčinou kratší délky penisu u kontrolní skupiny je chyba v měření, protože chlapci z kontrolní skupiny na rozdíl od studijní skupiny byli vyšetřováni převážně jen jedním lékařem. Výsledek závisí na intenzitě natažení penisu. Naše vysvětlení podporují výsledky Thankamony et al. 2014, kteří publikovali studii porovnávající délku penisu u skupiny zdravých kontrol a kryptorchizmu kolem jednoho roku věku, délka penisu se mezi skupinami významně nelišila.

Nález vyšších hladin SHBG a volného testosteronu u unilaterálního kryptorchizmu je obtížně interpretovatelný pro velmi omezenou dostupnost prací na toto téma. **Mohou být odrazem vyšší citlivosti nebo neočekávané reakce hypothalamo-hypofýzo-testikulární osy u unilaterálního kryptorchizmu, podporují to také vyšší hodnoty LH a testosteronu u unilaterálního kryptorchizmu, i když nevýznamné. Obecně u novorozenců jsou vyšší hladiny SHBG spojeny s vyššími hladinami testosteronu.** (de Ronde W. et al. 2005)

AMH je považováno za marker funkce Sertoliho buněk. Yamanaka et al. 1991 nepopisují významný rozdíl v hladině AMH v době tří měsíců, nicméně hodnotí hladiny u kryptorchizmu bez dělení na unilaterální či bilaterální nález. Nízké hladiny AMH proti normám jsou obvykle popisovány v případech hypogonadismu u dětí (Misra et al. 2002), ale byl popsán i u nonsyndromického kryptorchizmu (Matuszczak et al. 2012). Podle našeho zjištění nízkých hladin AMH ve 3 měsících u bilaterálního kryptorchizmu předpokládáme nezralost a dysfunkci Sertoliho buněk.

Ostatní hlavní sledované parametry minipuberty (LH, FSH, Testosteron, Estradiol, Inhibin B) nevykazovaly významné rozdíly napříč námi testovanými skupinami.

Závěr: Na základě našich výsledků jsme nepotvrdili hypotézu o insuficientním průběhu minipuberty u kryptorchizmu, jak byla popsána v minulosti a na jejíž nálezy se odvolávají další práce, dávající do souvislosti poruchu maturace gonocytů s insuficientní minipubertou (viz níže). Zjistili jsme jen určité známky vyšší aktivace hypothalamo-hypofýzo-testikulární osy. Náš nález je v soulasu s Hildorf et al. 2022, kteří popisují zcela normální hormonální nález u většiny dětí operovaných pro nesyndromický kryptorchizmus. Rovněž nálezy De Muinck Kaizer-Schrama et al. 1988 nenasvědčují poklesu v hypothalamo-hypofyzární ose ani v biosyntéze testosteronu u unilaterálního kryptorchizmu.

Dostupné práce popisující tzv. endokrinopatii u kryptorchizmu (např. Hadžiselimovič F. 2024) nepředkládají dostatečná data a jsou obvykle podložena nálezem nedostatečného množství transformovaných gonocytů v adultní spermatogonie v peroperační histologii a dedukcí o nutnosti dostatečné hormonální stimulace k této transformaci. Práce se obvykle odkazují na historické publikace (Gendrel D. et al 1980; Job J. C. et al. 1987), které udávají nižší hladinu testosteronu u kryptorchizmu. I tyto práce našly rozdíly zejména u stimulovaných hodnot. Novější publikace (Pierik et al. 2008) potvrzuje nižší hladiny sérového testosteronu, nicméně v této práci není specifikován věk chlapců s kryptorchizmem, v němž byly krevní odběry provedeny, zatímco většina zdravých kontrol byla vyšetřena ve věku kolem dvou měsíců. Z tabulkových hodnot pro normy víme, že maximální hodnoty testosteronu oscilují mezi druhým a třetím měsícem věku a následně velmi rychle klesají. Pokud tedy není odběr obou skupin proveden přibližně ve stejném věku, pak nemusí být hodnoty srovnatelné.

Dalším cílem práce bylo zjistit na prospektivní studii, jak ovlivní hormonální předléčba anatomický a hormonální stav chlapců s kryptorchizmem v kojeneckém věku. Očekávaným výstupem bylo vyhodnocení bezpečnosti podávané hormonální stimulace.

Při srovnání vyšetření v minipubertě a v době operace jsme **významný nárůst délky penisu v obou skupinách** (s hormonální léčbou a bez léčby), při porovnání trendu obou skupin ale nebyl patrný rozdíl. **Rozdíl ve velikosti a v trendu vývoje celkového objemu testikulární tkáně nebyl významný** mezi skupinami.

U obou skupin unilaterálního kryptorchizmu jsme zaznamenali významný pokles hladiny SHBG, LH, FSH, Testosteronu, volného Testosteronu, Inhibinu B mezi sledovanými obdobími od iniciačního vyšetření do operace, obě skupiny se v trendu poklesu nelišily. Pouze analýza hladin AMH ukázala u skupiny stimulované gonadorelinem statisticky **významnější pokles** oproti skupině, která podstoupila jen operaci.

Stejný cíl hodnotící bezpečnost léčby jsme měli i v případě bilaterálního kryptorchizmu (kap. 6.5.). Stejně jako v souboru unilaterálního kryptorchizmu jsme i zde zaznamenali pokles sérových hladin LH, FSH, Testosteronu, free Testosteronu, Inhibinu B. V případě bilaterálního kryptorchizmu jsme však nenalezli rozdílný vývoj u AMH mezi oběma skupinami (s hormonální léčbou a bez léčby). **Trend byl u většiny měřených hormonů srovnatelný pro obě skupiny**, ale hladinu významnosti nebylo u druhé skupiny možné statisticky zhodnotit z důvodu malého počtu vyšetřených jedinců. Ve skupině s podanou hormonální stimulací ve věku šesti měsíců se jednalo o významný pokles.

Na základě těchto výsledků jsme potvrdili naše předchozí **výsledky hodnocení bezpečnosti podávané hormonální léčby**, které jsme publikovali z menšího souboru pacientů (Fiala et al. 2022).

Závěr: hormonální stimulace u unilaterálního kryptorchizmu, aplikovaná v 6 měsících, významně neovlivňuje anatomický nález ani klidové hladiny měřených hormonů v době operace s výjimkou výraznějšího poklesu AMH.

Stejným principem jsme vyhodnotili i vliv hormonální léčby na vývoj hormonálních a anatomických parametrů u chlapců s bilaterálním kryptorchizmem (s hormonální léčbou a bez léčby). Byť byl soubor těchto chlapců malý, pozorovali jsme podobné trendy jako v případě unilaterálního kryptorchizmu. Ani u jednoho testovaného parametru jsme nezaznamenali významný rozdíl ve vývoji nálezu mezi vyšetřením ve 3 měsících a v době operace. Vzhledem

k tomuto výsledku **nepovažujeme užívání hormonální léčby za rizikové ani u bilaterálního kryptorchizmu.**

Třetím cílem je posoudit, do jaké míry terapeutická hormonální předléčba dosahuje fyziologické hormonální stimulace v době minipuberty u skupiny s unilaterálním kryptorchizmem. Srovnávali jsme změny mezi vstupním vyšetřením a vyšetřením v 6 měsících a změny mezi vyšetřením v 6 měsících a v době operace. Anatomický nález byl v šesti měsících měřen ještě před podáním léčby, zatímco hormonální hladiny byly kontrolovány v průběhu stimulační léčby.

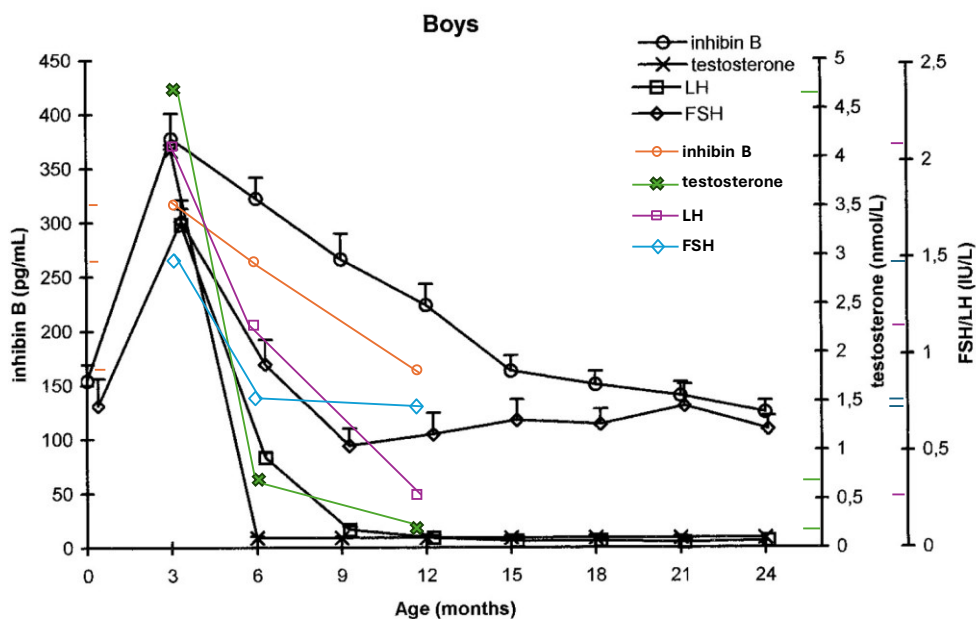
Zjistili jsme postupný **nárůst velikosti penisu, který však nebyl významný.** Pozorovali jsme **nevýznamný nárůst celkového objemu testikulární tkáně** od vstupního vyšetření, objem byl vyšší při kontrolním vyšetření než v době operace (Busch A. S. et al. 2022). Tento trend byl patrný i v případě samostatného hodnocení sestouplého a nesestouplého varlete.

V průběhu sledování došlo k **poklesu LH, ten ale byl v obou sledovaných intervalech nevýznamný.** Rovněž došlo k **poklesu hladiny FSH,** rozdíl rychlosti poklesu hladiny v séru byl v prvním intervalu (vstupní vyšetření až kontrola v šesti měsících) proti poklesu ve druhém intervalu (šest měsíců až doba operace) statisticky významný.

Od vstupního vyšetření do doby operace došlo k významnému **poklesu testosteronu** i jeho volné frakce, v obou případech byl významnější pokles během prvního intervalu.

Zaznamenali jsme také významnější pokles hladiny celkového i **volného testosteronu** v prvním intervalu proti poklesu ve druhém. **Inhibin B** klesl významně rychleji ve druhém intervalu než v prvním.

Závěr: terapeutická hormonální stimulace zdaleka nedosahuje úrovně vlastní fyziologické stimulace minipubertou. Nicméně při srovnání s dostupnými hormonálními hladinami v průběhu prvního roku života u zdravých kontrol (Andersson et al. 1998) nacházíme u křivek 3-6 měsíců naší intervenční skupiny **méně výrazný očekávaný pokles LH a testosteronu.** Tento trend pokládáme za důkaz užívání Gonadorelinu (Kryptocur®), který je analogem LHRH, tedy více stimuluje hladinu LH, zatímco pokles u FSH na klidovou hodnotu je časnější. **U testosteronu nacházíme také pozvolnější pokles na klidové hodnoty (graf 47).**



Graf 47: porovnání našeho nálezu hormonálních hladin u unilaterálního kryptorchizmu při podání hormonální stimulace v 6 měsících s citovanou publikací Andersson et al. 1998

Námi použité dávkovací schéma (3x denně, 2 vstříky, 4 týdny; dávka 1,2mg/den) je dle doporučení výrobce, stejnou dávku používali Jallouli et al. 2009, kteří na věkově velmi nehomogenní skupině 12 kryptorchiků (věk v době hormonální léčby: medián 38 měsíců, 21-110) prokázali vyšší index adultních spermatogonií na řez histologického vzorku po podané neoadjuvantní hormonální léčbě. Podobných výsledků se stejným dávkováním dosáhli u většího souboru Schwenter et al. 2005. Kolektiv autorů Thorup et al. 2018 používal dávkovací schéma 2 vstříky (0,4mg) každý druhý den po dobu 16 týdnů, kde byl prokázán pozitivní efekt z hodnocení rebiopsií u 3 z 5 dětí. Žádná z těchto prací nezaznamenala nežádoucí účinky. Limitem těchto prací byla absence srovnání hormonálních hladin v průběhu stimulace.

Posledním cílem je zhodnotit možný vliv mateřského mléka na minipubertu. Analýzou mateřského mléka matek chlapců s jednostranně nesestoupným varletem jsme zjistili **významně nižší koncentrace LH a FSH v mateřském mléku než v séru příslušných chlapců.** Na základě tohoto nálezu můžeme soudit, že hodnoty LH a FSH přijímané dítětem v mateřském mléce, nemají vliv na vlastní hormonální osu dítěte. Koncentrace progesteronu v mateřském mléce byly též významně nižší než hodnoty stejného hormonu měřené v séru. Z testovaných

hormonů **jediné hodnoty estradiolu vykazovaly v mateřském mléce vyšší hladiny v porovnání se sérem chlapců**, kde byly hladiny pod dolní referenční mezí laboratoře.

U kontrolní skupiny jsme zaznamenali v mateřském mléce významně nižší hladiny LH a FSH, než jsme naměřili v séru chlapců příslušných matek. Porovnání estradiolu v této skupině bylo limitováno z důvodu změny referenčních mezí. Zmražený materiál mateřského mléka byl testován s odstupem několika let, během kterých výrobce komerčních kitů zvýšil dolní referenční mez a všechny dříve naměřené konkrétní hodnoty jsou nyní pod touto mezí. Z tohoto důvodu není možné ani přímé statistické srovnání studijní skupiny s kontrolní, ačkoliv trend hodnot je zjevně podobný.

Limitem naší práce je malý soubor nesyndromických bilaterálních kryptorchiků, těchto pacientů je však obecně málo. Dalším limitem může být absence testikulárních biopsií, jejich hodnocení může být ale složité s ohledem na to, že i pooperačně může nadále docházet k apoptóze zárodečných buněk a není tak jasné, zda je efekt hormonální předléčby dostatečný. Podle našich výsledků nejsme na základě prostého vyšetření hormonálních parametrů schopni selektovat tzv. High infertility risk skupinu. Nicméně pokud již v průběhu prvního roku života dochází k postupné ztrátě zárodečných buněk, pak hormonální stimulace by u těchto chlapců měla probíhat již dříve než až po orchidopexi, tedy se domníváme, že stanovení HIR na základě biopsie je pozdní. Dosud hodnocené soubory v publikovaných pracích postrádají kompletní sledování hormonálního stavu v průběhu prvního roku života, již od minipuberty. Obvykle je jen konstatován předpoklad insuficientní minipuberty.

Odpověď by mohlo dát provedení LHRH testu v minipubertě, kdy nízká reakce na stimulaci by mohla být indikací k selektivnímu pokračování neoadjuvantní stimulace již v minipubertě. To by vyžadovalo prospektivní randomizovanou studii s následnou biopsií a hormonálním profilem při operaci na vyšším počtu nemocných, tedy v rámci multicentrické studie, která by pak mohla potvrdit v rámci dlouhodobého sledování účinek na fertilitu na konci puberty.

8. Závěr

Na základě našich výsledků jsme prokázali, že průběh minipuberty se u chlapců s kryptorchizmem neliší od zdravých kontrol, jsou ale známky vyšší aktivace hypothalamo-hypofyzo-testikulární osy. Navíc se ukazuje, že stimulované hormonální hladiny nedosahují přirozených hodnot v průběhu minipuberty. Z toho vyvozujeme, že plošné podání hormonální léčby všem kryptorchikům zřejmě nepřináší zásadní výhodu ve vztahu k budoucím fertilitním funkcím jedince.

Předpokládáme, že možným budoucím řešením by mohla být časná monitorace hormonálních hladin u kryptorchiků v minipubertě a orchidopexie kolem šestého měsíce věku. Na základě výsledků by pak mohli být vyhledáni kandidáti k podávání hormonální léčby v adjuvantním režimu. Alternativou by mohlo být provedení LHRH testu v minipubertě, kdy nízká reakce na stimulaci by mohla být indikací k selektivnímu pokračování neoadjuvantní stimulace v minipubertě.

Dalším výzkumným směrem by mohla být genetická vyšetření s cílem nalezení kandidátních genů, kterými by se dali selektovat skutečně rizikovní kandidáti vhodní pro hormonální léčbu.

Projekt nadále pokračuje v dlouhodobém sledování již zařazených dětí s cílem vyhodnocení parametrů spermioqramu po šestnáctém roce věku.

9. Seznam použité literatury

1. Docimo, S. G., Canning, D., El-Khoury A. E. and Salle, J. L. P., The Kelalis--King--Belman textbook of clinical pediatric urology, Sixth edition. Boca Raton: CRC Press, 1150-1156, 2017.
2. Kočvara R., Drlík M. a kol., Dětská urologie, 1. vydání. Praha: Maxdorf, 624-640, 2023.
3. Hutson, J. M., Thorup, J., Beasley, S. W., editors. Descent of the Testis. Heidelberg, New York, Dordrecht, London: Springer International Publishing AG; (2016). p. 17-28.
4. Hutson, J. M., Li, R., Southwell, B. R., Newgreen, D., & Cousinery, M. (2015). Regulation of testicular descent. *Pediatric surgery international*, 31(4), 317–325. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1007/s00383-015-3673-4>

5. Hutson, J. M., Southwell, B. R., Li, R., Lie, G., Ismail, K., Harisis, G., & Chen, N. (2013). The regulation of testicular descent and the effects of cryptorchidism. *Endocrine reviews*, 34(5), 725–752. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1210/er.2012-1089>
6. Hildorf S. E. (2022). Clinical aspects of histological and hormonal parameters in boys with cryptorchidism: Thesis for PhD degree. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*, 130 Suppl 143(Suppl 143), 1–58. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1111/apm.13247>
7. Damgaard, I. N., Skakkebaek, N. E., Toppari, J., Virtanen, H. E., Shen, H., Schramm, K. W., Petersen, J. H., Jensen, T. K., Main, K. M., & Nordic Cryptorchidism Study Group (2006). Persistent pesticides in human breast milk and cryptorchidism. *Environmental health perspectives*, 114(7), 1133–1138. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1289/ehp.8741>
8. Collet, B., van Vugt-Lussenburg, B. M. A., Swart, K., Helmus, R., Naderman, M., de Rijke, E., Eggesbø, M., Brouwer, A., & van der Burg, B. (2020). Antagonistic activity towards the androgen receptor independent from natural sex hormones in human milk samples from the Norwegian HUMIS cohort. *Environment international*, 143, 105948. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1016/j.envint.2020.105948>
9. Krysiak-Baltyn, K., Toppari, J., Skakkebaek, N. E., Jensen, T. S., Virtanen, H. E., Schramm, K. W., Shen, H., Vartiainen, T., Kiviranta, H., Taboureau, O., Audouze, K., Brunak, S., & Main, K. M. (2012). Association between chemical pattern in breast milk and congenital cryptorchidism: modelling of complex human exposures. *International journal of andrology*, 35(3), 294–302. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1111/j.1365-2605.2012.01268.x>
10. Barthold, J. S., Hossain, J., Olivant-Fisher, A., Reilly, A., Figueroa, T. E., Banihani, A., Hagerty, J., González, R., Noh, P. H., & Manson, J. M. (2012). Altered infant feeding patterns in boys with acquired nonsyndromic cryptorchidism. *Birth defects research. Part A, Clinical and molecular teratology*, 94(11), 900–907. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1002/bdra.23075>
11. O'Shaughnessy P. J. (2014). Hormonal control of germ cell development and spermatogenesis. *Seminars in cell & developmental biology*, 29, 55–65. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1016/j.semcd.2014.02.010>
12. Tien, M. Y., Abeydeera, S. A., Cho, H. J., Sarila, G., Catubig, A., Burton, E., Hutson, J., & Li, R. (2020). Does the apoptosis pathway play a critical role in gonocyte

- transformation?. *Journal of pediatric surgery*, 55(9), 1947–1951. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1016/j.jpedsurg.2019.09.038>
13. Wein A. J., Kavoussi L. R., Campbell M. F., Campbell-Walsh urology: editor-in-chief, Alan J. Wein ; [editors, Louis R. Kavoussi ... et al.], 11th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders, pp. 3430-3433, c2016.
 14. Hutson, J. M., Thorup, J., Beasley, S. W., editors. *Descent of the Testis*. Heidelberg, New York, Dordrecht, London: Springer International Publishing AG; (2016). p. 149–56.
 15. Becker, M., & Hesse, V. (2020). Minipuberty: Why Does it Happen?. *Hormone research in paediatrics*, 93(2), 76–84. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1159/000508329>
 16. Beck-Peccoz, P., Padmanabhan, V., Baggiani, A. M., Cortelazzi, D., Buscaglia, M., Medri, G., Marconi, A. M., Pardi, G., & Beitins, I. Z. (1991). Maturation of hypothalamic-pituitary-gonadal function in normal human fetuses: circulating levels of gonadotropins, their common alpha-subunit and free testosterone, and discrepancy between immunological and biological activities of circulating follicle-stimulating hormone. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 73(3), 525–532. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1210/jcem-73-3-525>
 17. Lanciotti, L., Cofini, M., Leonardi, A., Penta, L., & Esposito, S. (2018). Up-To-Date Review About Minipuberty and Overview on Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis Activation in Fetal and Neonatal Life. *Frontiers in endocrinology*, 9, 410. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.3389/fendo.2018.00410>
 18. Kuiri-Hänninen, T., Kallio, S., Seuri, R., Tyrväinen, E., Liakka, A., Tapanainen, J., Sankilampi, U., & Dunkel, L. (2011). Postnatal developmental changes in the pituitary-ovarian axis in preterm and term infant girls. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 96(11), 3432–3439. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1210/jc.2011-1502>
 19. Kuiri-Hänninen, T., Seuri, R., Tyrväinen, E., Turpeinen, U., Hämäläinen, E., Stenman, U. H., Dunkel, L., & Sankilampi, U. (2011). Increased activity of the hypothalamic-pituitary-testicular axis in infancy results in increased androgen action in premature boys. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 96(1), 98–105. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1210/jc.2010-1359>
 20. Lucaccioni, L., Trevisani, V., Boncompagni, A., Marrozzini, L., Berardi, A., & Iughetti, L. (2021). Minipuberty: Looking Back to Understand Moving Forward. *Frontiers in pediatrics*, 8, 612235. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.3389/fped.2020.612235>

21. Hines, M., Spencer, D., Kung, K. T., Browne, W. V., Constantinescu, M., & Noorderhaven, R. M. (2016). The early postnatal period, mini-puberty, provides a window on the role of testosterone in human neurobehavioural development. *Current opinion in neurobiology*, 38, 69–73. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1016/j.conb.2016.02.008>
22. Kuiri-Hänninen, T., Sankilampi, U., & Dunkel, L. (2014). Activation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in infancy: minipuberty. *Hormone research in paediatrics*, 82(2), 73–80. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1159/000362414>
23. Schmidt, H., & Schwarz, H. P. (2000). Serum concentrations of LH and FSH in the healthy newborn. *European journal of endocrinology*, 143(2), 213–215. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1530/eje.0.1430213>
24. Andersson, A. M., Toppari, J., Haavisto, A. M., Petersen, J. H., Simell, T., Simell, O., & Skakkebaek, N. E. (1998). Longitudinal reproductive hormone profiles in infants: peak of inhibin B levels in infant boys exceeds levels in adult men. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 83(2), 675–681. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1210/jcem.83.2.4603>
25. Kuiri-Hänninen, T., Koskenniemi, J., Dunkel, L., Toppari, J., & Sankilampi, U. (2019). Postnatal Testicular Activity in Healthy Boys and Boys With Cryptorchidism. *Frontiers in endocrinology*, 10, 489. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.3389/fendo.2019.00489>
26. Docimo, S. G., Canning, D., El-Khoury A. E. and Salle, J. L. P., *The Kelalis--King--Belman textbook of clinical pediatric urology*, Sixth edition. Boca Raton: CRC Press, 1347-1348, 2017.
27. Quigley C. A. (2002). Editorial: The postnatal gonadotropin and sex steroid surge--insights from the androgen insensitivity syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 87(1), 24–28. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1210/jcem.87.1.8265>
28. Thorup, J., Petersen, B. L., Kvist, K., & Cortes, D. (2011). Bilateral vanished testes diagnosed with a single blood sample showing very high gonadotropins (follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone) and very low inhibin B. *Scandinavian journal of urology and nephrology*, 45(6), 425–431. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.3109/00365599.2011.609833>
29. Ramaswamy, S., & Weinbauer, G. F. (2015). Endocrine control of spermatogenesis: Role of FSH and LH/ testosterone. *Spermatogenesis*, 4(2), e996025. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1080/21565562.2014.996025>

30. Job, J. C., Gendrel, D., Safar, A., Roger, M., & Chaussain, J. L. (1977). Pituitary LH and FSH and testosterone secretion in infants with undescended testes. *Acta endocrinologica*, 85(3), 644–649. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1530/acta.0.0850644>
31. Verkauskas, G., Malcius, D., Eidukaite, A., Vilimas, J., Dasevicius, D., Bilius, V., & Hadziselimovic, F. (2016). Prospective study of histological and endocrine parameters of gonadal function in boys with cryptorchidism. *Journal of pediatric urology*, 12(4), 238.e1–238.e2386. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1016/j.jpurol.2016.05.007>
32. Hadziselimović, F., Thommen, L., Girard, J., & Herzog, B. (1986). The significance of postnatal gonadotropin surge for testicular development in normal and cryptorchid testes. *The Journal of urology*, 136(1 Pt 2), 274–276. [https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1016/s0022-5347\(17\)44839-7](https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1016/s0022-5347(17)44839-7)
33. Scheutz Henriksen, L., Holm Petersen, J., Skakkebaek, N. E., Jørgensen, N., Virtanen, H. E., Priskorn, L., Juul, A., Toppari, J., & Main, K. M. (2022). Serum Testosterone Levels in 3-Month-Old Boys Predict Their Semen Quality as Young Adults. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 107(7), 1965–1975. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1210/clinem/dgac173>
34. Gendrel, D., Roger, M., & Job, J. C. (1980). Plasma gonadotropin and testosterone values in infants with cryptorchidism. *The Journal of pediatrics*, 97(2), 217–220. [https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1016/s0022-3476\(80\)80477-x](https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1016/s0022-3476(80)80477-x)
35. Job, J. C., Toublanc, J. E., Chaussain, J. L., Gendrel, D., Roger, M., & Canlorbe, P. (1987). The pituitary-gonadal axis in cryptorchid infants and children. *European journal of pediatrics*, 146 Suppl 2, S2–S5. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1007/BF00452857>
36. Grinspon, R. P., Gottlieb, S., Bedecarrás, P., & Rey, R. A. (2018). Anti-Müllerian Hormone and Testicular Function in Prepubertal Boys With Cryptorchidism. *Frontiers in endocrinology*, 9, 182. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.3389/fendo.2018.00182>
37. Yamanaka, J., Baker, M., Metcalfe, S., & Hutson, J. M. (1991). Serum levels of Mullerian inhibiting substance in boys with cryptorchidism. *Journal of pediatric surgery*, 26(5), 621–623. [https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1016/0022-3468\(91\)90723-7](https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1016/0022-3468(91)90723-7)
38. Goulis, D. G., Iliadou, P. K., Tsametis, C., Gerou, S., Tarlatzis, B. C., Bontis, I. N., & Papadimas, I. (2008). Serum anti-Müllerian hormone levels differentiate control from subfertile men but not men with different causes of subfertility. *Gynecological*

- endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 24(3), 158–160. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1080/09513590701672314>
39. Edelsztejn, N. Y., Grinspon, R. P., Schteingart, H. F., & Rey, R. A. (2016). Anti-Müllerian hormone as a marker of steroid and gonadotropin action in the testis of children and adolescents with disorders of the gonadal axis. *International journal of pediatric endocrinology*, 2016, 20. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1186/s13633-016-0038-2>
40. Young, J., Chanson, P., Salenave, S., Noël, M., Brailly, S., O'Flaherty, M., Schaison, G., & Rey, R. (2005). Testicular anti-müllerian hormone secretion is stimulated by recombinant human FSH in patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 90(2), 724–728. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1210/jc.2004-0542>
41. Esposito, S., Cofini, M., Rigante, D., Leonardi, A., Lucchetti, L., Cipolla, C., Lanciotti, L., & Penta, L. (2018). Inhibin B in healthy and cryptorchid boys. *Italian journal of pediatrics*, 44(1), 81. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1186/s13052-018-0523-8>
42. Suomi, A. M., Main, K. M., Kaleva, M., Schmidt, I. M., Chellakooty, M., Virtanen, H. E., Boisen, K. A., Damgaard, I. N., Kai, C. M., Skakkebaek, N. E., & Toppari, J. (2006). Hormonal changes in 3-month-old cryptorchid boys. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 91(3), 953–958. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1210/jc.2004-2318>
43. Christiansen, P., Andersson, A. M., Skakkebaek, N. E., & Juul, A. (2002). Serum inhibin B, FSH, LH and testosterone levels before and after human chorionic gonadotropin stimulation in prepubertal boys with cryptorchidism. *European journal of endocrinology*, 147(1), 95–101. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1530/eje.0.1470095>
44. Thorup, J., Kvist, K., Clasen-Linde, E., Hutson, J. M., & Cortes, D. (2015). Serum inhibin B values in boys with unilateral vanished testis or unilateral cryptorchidism. *The Journal of urology*, 193(5), 1632–1636. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1016/j.juro.2014.10.110>
45. Andersson, A. M., Juul, A., Petersen, J. H., Müller, J., Groome, N. P., & Skakkebaek, N. E. (1997). Serum inhibin B in healthy pubertal and adolescent boys: relation to age, stage of puberty, and follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, testosterone, and

- estradiol levels. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 82(12), 3976–3981. <https://doi.org/10.1210/jcem.82.12.4449>
46. Thorup, J., Clasen-Linde, E., Thorup, S. C., & Cortes, D. (2015). Pre- and postoperative status of gonadotropins (FSH and LH) and inhibin-B in relation to testicular histopathology at orchiopexy in infant boys with unilateral undescended testes. *Journal of pediatric urology*, 11(1), 25.e1–25.e255. <https://doi.org/10.1016/j.jpuro.2014.08.007>
47. Gurney, J. K., McGlynn, K. A., Stanley, J., Merriman, T., Signal, V., Shaw, C., Edwards, R., Richiardi, L., Hutson, J., & Sarfati, D. (2017). Risk factors for cryptorchidism. *Nature reviews. Urology*, 14(9), 534–548. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2017.90>
48. Wenzler, D. L., Bloom, D. A., & Park, J. M. (2004). What is the rate of spontaneous testicular descent in infants with cryptorchidism?. *The Journal of urology*, 171(2 Pt 1), 849–851. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000106100.21225.d7>
49. Pettersson, A., Richiardi, L., Nordenskjold, A., Kaijser, M., & Akre, O. (2007). Age at surgery for undescended testis and risk of testicular cancer. *The New England journal of medicine*, 356(18), 1835–1841. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa067588>
50. Thorup, J., & Cortes, D. (2019). Surgical Management of Undescended Testis - Timetable and Outcome: A Debate. *Sexual development : genetics, molecular biology, evolution, endocrinology, embryology, and pathology of sex determination and differentiation*, 13(1), 11–19. <https://doi.org/10.1159/000496417>
51. Ferguson, L., & Agoulnik, A. I. (2013). Testicular cancer and cryptorchidism. *Frontiers in endocrinology*, 4, 32. <https://doi.org/10.3389/fendo.2013.00032>
52. Canavese, F., Mussa, A., Manenti, M., Cortese, M. G., Ferrero, L., Tuli, G., Macchieraldo, R., & Lala, R. (2009). Sperm count of young men surgically treated for cryptorchidism in the first and second year of life: fertility is better in children treated at a younger age. *European journal of pediatric surgery : official journal of Austrian Association of Pediatric Surgery ... [et al] = Zeitschrift fur Kinderchirurgie*, 19(6), 388–391. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1055/s-0029-1241171>
53. Setchell B. P. (1998). The Parkes Lecture. Heat and the testis. *Journal of reproduction and fertility*, 114(2), 179–194. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1530/jrf.0.1140179>
54. Hadziselimovic, F., Hadziselimovic, N. O., Demougin, P., Krey, G., & Oakeley, E. (2015). Piwi-pathway alteration induces LINE-1 transposon derepression and infertility development in cryptorchidism. *Sexual development : genetics, molecular biology,*

- evolution, endocrinology, embryology, and pathology of sex determination and differentiation*, 9(2), 98–104. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1159/000375351>
55. Hadziselimovic, F., Hadziselimovic, N. O., Demougin, P., Krey, G., & Oakeley, E. J. (2011). Deficient expression of genes involved in the endogenous defense system against transposons in cryptorchid boys with impaired mini-puberty. *Sexual development : genetics, molecular biology, evolution, endocrinology, embryology, and pathology of sex determination and differentiation*, 5(6), 287–293. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1159/000335188>
56. Agarwal, P. K., Diaz, M., & Elder, J. S. (2006). Retractable testis--is it really a normal variant?. *The Journal of urology*, 175(4), 1496–1499. [https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1016/S0022-5347\(05\)00674-9](https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1016/S0022-5347(05)00674-9)
57. Hodhod, A., Capolicchio, J. P., Jednak, R., & El-Sherbiny, M. (2016). Testicular hypertrophy as a predictor for contralateral monorchism: Retrospective review of prospectively recorded data. *Journal of pediatric urology*, 12(1), 34.e1–34.e345. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1016/j.jpurol.2015.06.010>
58. Radmayr, C., Dogan, H. S., Hoebeke, P., Kocvara, R., Nijman, R., Silay, S., Stein, R., Undre, S., & Tekgul, S. (2016). Management of undescended testes: European Association of Urology/European Society for Paediatric Urology Guidelines. *Journal of pediatric urology*, 12(6), 335–343. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1016/j.jpurol.2016.07.014>
59. Ritzén, E. M., Bergh, A., Bjercknes, R., Christiansen, P., Cortes, D., Haugen, S. E., Jörgensen, N., Kollin, C., Lindahl, S., Läckgren, G., Main, K. M., Nordenskjöld, A., Rajpert-De Meyts, E., Söder, O., Taskinen, S., Thorsson, A., Thorup, J., Toppari, J., & Virtanen, H. (2007). Nordic consensus on treatment of undescended testes. *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)*, 96(5), 638–643. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1111/j.1651-2227.2006.00159.x>
60. Hadziselimovic F. (2019). Is Hormonal Treatment of Congenital Undescended Testes Justified? A Debate. *Sexual development : genetics, molecular biology, evolution, endocrinology, embryology, and pathology of sex determination and differentiation*, 13(1), 3–10. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1159/000496418>
61. Thorup, J., Jensen, C. L., Langballe, O., Petersen, B. L., & Cortes, D. (2011). The challenge of early surgery for cryptorchidism. *Scandinavian journal of urology and nephrology*, 45(3), 184–189. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.3109/00365599.2010.549091>

62. Kollin, C., Stukenborg, J. B., Nurmio, M., Sundqvist, E., Gustafsson, T., Söder, O., Toppari, J., Nordenskjöld, A., & Ritzén, E. M. (2012). Boys with undescended testes: endocrine, volumetric and morphometric studies on testicular function before and after orchidopexy at nine months or three years of age. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, *97*(12), 4588–4595. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1210/jc.2012-2325>
63. Hildorf, S., Dong, L., Thorup, J., Clasen-Linde, E., Yding Andersen, C., & Cortes, D. (2019). Sertoli Cell Number Correlates with Serum Inhibin B in Infant Cryptorchid Boys. *Sexual development : genetics, molecular biology, evolution, endocrinology, embryology, and pathology of sex determination and differentiation*, *13*(2), 74–82. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1159/000497374>
64. Hadziselimovic F. (2017). On the descent of the epididymo-testicular unit, cryptorchidism, and prevention of infertility. *Basic and clinical andrology*, *27*, 21. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1186/s12610-017-0065-8>
65. Vincel, B., Verkauskas, G., Bilius, V., Dasevicius, D., Malcius, D., Jones, B., & Hadziselimovic, F. (2018). Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist Corrects Defective Mini-Puberty in Boys with Cryptorchidism: A Prospective Randomized Study. *BioMed research international*, *2018*, 4651218. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1155/2018/4651218>
66. Gul, M., Hildorf, S., Dong, L., Thorup, J., Hoffmann, E. R., Jensen, C. F. S., Sønksen, J., Cortes, D., Fedder, J., Andersen, C. Y., & Goossens, E. (2020). Review of injection techniques for spermatogonial stem cell transplantation. *Human reproduction update*, *26*(3), 368–391. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1093/humupd/dmaa003>
67. Jensen, C. F. S., Dong, L., Gul, M., Fode, M., Hildorf, S., Thorup, J., Hoffmann, E., Cortes, D., Fedder, J., Andersen, C. Y., & Sønksen, J. (2022). Fertility preservation in boys facing gonadotoxic cancer therapy. *Nature reviews. Urology*, *19*(2), 71–83. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1038/s41585-021-00523-8>
68. Thorup, J., Clasen-Linde, E., Dong, L., Hildorf, S., Kristensen, S. G., Andersen, C. Y., & Cortes, D. (2018). Selecting Infants With Cryptorchidism and High Risk of Infertility for Optional Adjuvant Hormonal Therapy and Cryopreservation of Germ Cells: Experience From a Pilot Study. *Frontiers in endocrinology*, *9*, 299. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.3389/fendo.2018.00299>
69. Hildorf, S., Clasen-Linde, E., Cortes, D., Fossum, M., & Thorup, J. (2020). Fertility Potential is Compromised in 20% to 25% of Boys with Nonsyndromic Cryptorchidism

- despite Orchiopexy within the First Year of Life. *The Journal of urology*, 203(4), 832–840. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1097/JU.0000000000000615>
70. Chua, M. E., Mendoza, J. S., Gaston, M. J., Luna, S. L., Jr, & Morales, M. L., Jr (2014). Hormonal therapy using gonadotropin releasing hormone for improvement of fertility index among children with cryptorchidism: a meta-analysis and systematic review. *Journal of pediatric surgery*, 49(11), 1659–1667. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1016/j.jpedsurg.2014.06.013>
71. Dunkel, L., Taskinen, S., Hovatta, O., Tilly, J. L., & Wikström, S. (1997). Germ cell apoptosis after treatment of cryptorchidism with human chorionic gonadotropin is associated with impaired reproductive function in the adult. *The Journal of clinical investigation*, 100(9), 2341–2346. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1172/JCI119773>
72. Fiala, V., Jiraskova, Z., Drlik, M., Sedlacek, J., Dite, Z., Novakova, P., Kocvara, R., Kalousova, M., & Soukup, V. (2022). The safety of neoadjuvant hormonal treatment in infants with cryptorchidism. *Journal of pediatric urology*, 18(6), 846.e1–846.e6. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1016/j.jpuro.2022.05.010>
73. Jallouli, M., Rebai, T., Abid, N., Bendhaou, M., Kassis, M., & Mhiri, R. (2009). Neoadjuvant gonadotropin-releasing hormone therapy before surgery and effect on fertility index in unilateral undescended testes: a prospective randomized trial. *Urology*, 73(6), 1251–1254. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1016/j.urology.2008.10.078>
74. Schwentner, C., Oswald, J., Kreczy, A., Lunacek, A., Bartsch, G., Deibl, M., & Radmayr, C. (2005). Neoadjuvant gonadotropin-releasing hormone therapy before surgery may improve the fertility index in undescended testes: a prospective randomized trial. *The Journal of urology*, 173(3), 974–977. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1097/01.ju.0000153562.07287.77>
75. Vincel, B., Verkauskas, G., Bilius, V., Dasevicius, D., Malcius, D., Jones, B., & Hadziselimovic, F. (2018). Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist Corrects Defective Mini-Puberty in Boys with Cryptorchidism: A Prospective Randomized Study. *BioMed research international*, 2018, 4651218. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1155/2018/4651218>
76. Zivkovic, D., & Hadziselimovic, F. (2009). Development of Sertoli cells during mini-puberty in normal and cryptorchid testes. *Urologia internationalis*, 82(1), 89–91. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1159/000176032>

77. Verkauskas, G., Malcius, D., Dasevicius, D., & Hadziselimovic, F. (2019). Histopathology of Unilateral Cryptorchidism. *Pediatric and developmental pathology : the official journal of the Society for Pediatric Pathology and the Paediatric Pathology Society*, 22(1), 53–58. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1177/1093526618789300>
78. Faure, A., Bouty, A., O'Brien, M., Thorup, J., Hutson, J., & Heloury, Y. (2016). Testicular biopsy in prepubertal boys: a worthwhile minor surgical procedure?. *Nature reviews. Urology*, 13(3), 141–150. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1038/nrurol.2015.312>
79. Thankamony, A., Lek, N., Carroll, D., Williams, M., Dunger, D. B., Acerini, C. L., Ong, K. K., & Hughes, I. A. (2014). Anogenital distance and penile length in infants with hypospadias or cryptorchidism: comparison with normative data. *Environmental health perspectives*, 122(2), 207–211. <https://doi.org/10.1289/ehp.1307178>
80. de Ronde, W., van der Schouw, Y. T., Pierik, F. H., Pols, H. A., Muller, M., Grobbee, D. E., Gooren, L. J., Weber, R. F., & de Jong, F. H. (2005). Serum levels of sex hormone-binding globulin (SHBG) are not associated with lower levels of non-SHBG-bound testosterone in male newborns and healthy adult men. *Clinical endocrinology*, 62(4), 498–503. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2005.02252.x>
81. Misra, M., MacLaughlin, D. T., Donahoe, P. K., & Lee, M. M. (2002). Measurement of Mullerian inhibiting substance facilitates management of boys with micropallus and cryptorchidism. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 87(8), 3598–3602. <https://doi.org/10.1210/jcem.87.8.8742>
82. Matuszczak, E., Hermanowicz, A., Debek, W., Oksiuta, M., Dzienis-Koronkiewicz, E., & Zelazowska-Rutkowska, B. (2012). Serum AMH concentration as a marker evaluating gonadal function in boys operated on for unilateral cryptorchidism between 1st and 4th year of life. *Endocrine*, 41(2), 334–337. <https://doi.org/10.1007/s12020-011-9551-5>
83. Hildorf, S., Hildorf, A. E., Clasen-Linde, E., Cortes, D., Walther-Larsen, S., Li, R., Hutson, J. M., & Thorup, J. (2022). The Majority of Boys Having Orchidopexy for Congenital Nonsyndromic Cryptorchidism during Minipuberty Exhibited Normal Reproductive Hormonal Profiles. *European journal of pediatric surgery : official journal of Austrian Association of Pediatric Surgery ... [et al] = Zeitschrift fur Kinderchirurgie*, 32(1), 26–33. <https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1055/s-0041-1739416>
84. De Muinck Keizer-Schrama, S. M., Hazebroek, F. W., Drop, S. L., Degenhart, H. J., Molenaar, J. C., & Visser, H. K. (1988). Hormonal evaluation of boys born with

- undescended testes during their first year of life. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 66(1), 159–164. <https://doi.org/10.1210/jcem-66-1-159>
85. Hadziselimovic F. (2024). Advocating hormonal treatment to prevent adult in-fertility in patients diagnosed with congenital un-descended testes. *International braz j urol : official journal of the Brazilian Society of Urology*, 50(1), 20–27. <https://doi.org/10.1590/S1677-5538.IBJU.2024.9902>
86. Pierik, F. H., Deddens, J. A., Burdorf, A., de Muinck Keizer-Schrama, S. M., Jong, F. H., & Weber, R. F. (2009). The hypothalamus-pituitary-testis axis in boys during the first six months of life: a comparison of cryptorchidism and hypospadias cases with controls. *International journal of andrology*, 32(5), 453–461. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2008.00877.x>
87. Busch, A. S., Ljubivic, M. L., Upners, E. N., Fischer, M. B., Raket, L. L., Frederiksen, H., Albrethsen, J., Johannsen, T. H., Hagen, C. P., & Juul, A. (2022). Dynamic Changes of Reproductive Hormones in Male Minipuberty: Temporal Dissociation of Leydig and Sertoli Cell Activity. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 107(6), 1560–1568. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgac115>

10. Přehled publikační činnosti k tématu disertace

1. publikace v periodiku s IF

The safety of neoadjuvant hormonal treatment in infants with cryptorchidism.

Fiala, V., Jiraskova, Z., Drlik, M., Sedlacek, J., Dite, Z., Novakova, P., Kocvara, R., Kalousova, M., & Soukup, V. (2022). *Journal of pediatric urology*, 18(6), 846.e1–846.e6. (IF 1.921)

2. přehledový článek

Postnatální aktivace hypotalamo-hypofyzo-gonadální osy (minipuberta) a nesestouplé varle.

Fiala, V., Jirásková, Z., Drlik, M., Rappová, A., Kantorová, A., Kočvara, R. (2021). *Czech urology*, 25(3), 182-192

Přílohy

Pracovní postup měření Inhibin B

Inhibin B Gen II

Beckman Coulter (A81303)

Příprava reagensii :

Wash buffer (50ml) – 20x koncentrovaný, ředíme 50 ml + 950ml dest.vody

Substrátový roztok TBM (11ml) – ihned k použití

Stop Solution (11ml) – ihned k použití

Antibody-Biotin Conjugat (0,4ml) –50x konc., ředíme 10-30min před použitím (**např. 220ul konc.biotinu +10780 ul Biotin Conjugat Diluentu**)

Biotin Conjugát Diluent (13ml)- ihned k použití

Streptavidin – Enzym Conjugat (13ml) – ihned k použití

Assay Buffer (8ml) – ihned k použití

Standard (7ks ā 1ml)– lahvičky dodané v samostatném kitu, mražené.

Necháme volně rozmrazit. Jednotlivé koncentrace na lahvičce.

Kontroly I + II (2ks ā 1ml) - lahvičky dodané v samostatném kitu, mražené.

Necháme volně rozmrazit. Jednotlivé koncentrace na lahvičce.

Vzorky – lze použít serum, **heparinovou** plasmu . (*Je-li vz. vyšší než max ,ředíme standardou A*)

Kalibrace - 1.standard (G): **1000 pg/ml**

2.standard (F): **500 pg/ml**

3.standard (E): **250 pg/ml**

4.standard (D): **100 pg/ml**

5.standard (C): **30 pg/ml**

6.standard (B) : **10 pg/ml**

7.standard (A) : **0 ng/ml**

Pracovní postup :

1. napipetuj 50 ul kalibrátorů, kontrol a vzorků
2. napipetuj 50ul Assay Bufferu do všech jamek
3. inkubuj 2hod. při RT na třepačce 600-800rpm
(10min před koncem inkubace si připrav biotin)
4. promyj 5x
5. napipetuj 100ul antibody-biotin konjugátu do všech jamek
6. inkubuj 1 hod při RT na třepačce 600-800rpm
7. promyj 5x
8. napipetuj 100ul streptavidin-enzymového konjugátu do všech jamek
9. inkubuj 30min při RT na třepačce 600-800rpm
10. promyj 5x
- 11.napipetuj 100ul substrátového TMB do všech jamek, inkubuj 8-12min při RT
Na třepačce 600-800rpm. Chránit před světlem !
12. reakci zastavíme přidáním 100ul STOP činidla
13. měříme absorbanci při 450nm a 620nm jako ref.(korekce) do 30min, nastavit blank.
(měříme dle cubic regression fit, vyšší vzorky event. při 405nm/620nm)

Limit detekce : 7 pg/ml

Pracovní postup měření AMH

AMH Gen II
Coulter (A79765)

Beckman

AMH Gen II Calibrators and

Controls (A79766)

Příprava reagensií :

Wash buffer (50ml) – 20x koncentrovaný, ředíme **50 ml + 950ml** dest.vody

Substrátový roztok TBM (11ml) – ihned k použití

Stop Solution (11ml) – ihned k použití

Sample Diluent (13ml) – ihned k použití (pro ředění vysokých vzorků)

Antibody-Biotin Conjugat (13ml) – ihned k použití

Streptavidin – Enzym Conjugat (13ml) – ihned k použití

Assay Buffer (26ml) – pro ředění kalibrátorů, kontrol a vzorků (6x)

VŠE [standardy, kontroly a vzorky (naředěné)] se ředí 6x (1:5) v Assay bufferu (50+250ul)

Standard (6+blank ā 0,5ml) – lahvičky dodané v samostatném kitu, mražené.

Necháme volně rozmrazit. Jednotlivé koncentrace na lahvičce. Dále se ředí 6x Assay Buffer.

Kontroly I + II (2ks) - lahvičky dodané v samostatném kitu, mražené.

Necháme volně rozmrazit. Jednotlivé koncentrace na lahvičce. Dále se ředí 6x Assay Buffer.

Vzorky – lze použít serum, **heparinovou** plasmu, ředíme 6x Assay Buffer.

- 1) pediatrické vzorky před ředíme min. 10x Sample diluentem (10ul séra + 90ul samp. dil.)
- studie Kryptorchismus **15x** (10ul séra + 140ul samp. dil.)

- 2) ředíme **6x** Assay buffer (50 ul vzorku + 250 ul Assay buffer)

Kalibrace - 1.standard (č.6): **22 ng/ml** (liší se dle šarže)
2.standard (č.5) : **8.9 ng/ml**
3.standard (č.4) : **3.4 ng/ml**
4.standard (č.3) : **1.20 ng/ml**
5.standard (č.2) : **0.47 ng/ml**
6.standard (č.1) : **0.2 ng/ml**
7.standard (č.0) : **0 ng/ml**

Pracovní postup :

1. napipetuj do 1hod od ředění **120 ul** kalibrátorů, kontrol a vzorků (6x řed'.)
2. inkubuj **1hod.** při RT na třepačce 600-800rpm
3. promyj 5x
4. napipetuj **100ul** antibody-biotin konjugátu do všech jamek
5. inkubuj **1 hod** při RT na třepačce 600-800rpm
6. promyj 5x
7. napipetuj **100ul** streptavidin-enzymového konjugátu do všech jamek
8. inkubuj **30min** při RT na třepačce 600-800rpm
9. promyj 5x
10. napipetuj **100ul** substrátového TMB do všech jamek, inkubuj 8-12min při RT na třepačce 600-800rpm.
Chránit před světlem!
11. reakci zastavíme přidáním **100ul STOP** činidla
12. měříme absorbanci při 450nm a 620nm jako ref.(korekce) do 30min, std 0
nastavíme jako blank. Křivka cubic regression fit [$\log(x) - \log(y)$ dle výrobce].
13. výsledky vzorků násobíme případným ředěním v kroku 1)

Limit detekce: 0,05 ng/ml (se liší dle šarže)

Limit kvantifikace: 0,13 ng/ml

pro převod do SI jednotek: 1ng/ml = 7.14 pM