



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



Studijní program: postgraduální doktorské studium biomedicíny

Studijní obor: fyziologie a patofyziologie člověka

MUDr. Jan Vosáhlo

Genetická a hormonální regulace dětského růstu
Genetic and Hormonal Regulation of Children's
Growth

Dizertační práce

Školitel: prof. MUDr. Jan Lebl, CSc.

Praha, 2014

Tato disertační práce vznikla v rámci postgraduálního doktorského studia biomedicíny na 3. lékařské fakultě Univerzity Karlovy zařazeného do oborové rady PDSB Fyziologie a patofyziologie člověka. Práce vznikla ve spolupráci Kliniky dětí a dorostu UK-3.LF a Universitätskinderklinik Leipzig v Německu.

Autor práce: MUDr. Jan Vosáhlo

Studijní program: postgraduální doktorské studium biomedicíny

Oborová rada: fyziologie a patofyziologie člověka

Adresa pracoviště:

Klinika dětí a dorostu UK-3.LF a FNKV

Vinohradská 159

Praha 10

100 81

tel.: +420267262561

email: jan.vosahlo@email.cz

Školitel: Prof. MUDr. Jan Lebl, CSc.

Adresa pracoviště školitele:

Pediatrická klinika UK-2.LF a FNM

V Úvalu 84

Praha 5

150 06

Datum a rok obhajoby:

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou 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.

Dávám svolení k tomu, aby tato dizertační práce byla používána ke studijním účelům a aby byla její elektronická verze trvale uložena v databázovém systému za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze dne

Jan Vosáhlo

Identifikační záznam:

Vosáhlo, Jan. Genetická a hormonální regulace dětského růstu. [Genetic and Hormonal Regulation of Childrens's Growth]. Praha, 2014. 127 s., bez příl. Dizertační práce (PhD.). Univerzita Karlova v Praze, 3. lékařská fakulta, Klinika dětí a dorostu. Vedoucí práce Lebl, Jan.

Poděkování:

Mé poděkování patří především mému školiteli prof. MUDr. Janu Leblovi, CSc. za příkladné vedení mého postgraduálního studia, za ochotu kdykoli mě podpořit dobrou radou či účinnou pomocí a za trpělivost, s níž přistupoval k mému studiu v nelehkých začátcích i v celém jeho průběhu. Děkuji i profesorovi Rolandu Pfäfflemu, doktorce Heike Stobbe a ostatnímu personálu Molekular-genetisches Labor, Universitätskinderklinik Leipzig za pomoc při studiu molekulárně-genetických technik a v neposlední řadě děkuji i všem lékařům českých center pro léčbu růstovým hormonem, kteří s námi spolupracovali při výběru vhodných kandidátů k zařazení do studie.

Studie byla finančně podpořena výzkumnými záměry VZ MSM 11120001 a VZ MSM 0021620814. Pobyt v laboratoři na Universtitätkinderklinik byl hrazen grantem firmy Pfizer a Fondem mobility UK.

Obsah

Obsah	5
Seznam zkratek	6
Shrnutí	7
Summary	9
Cíle	11
Část A - Přehled problematiky	
1. Růst	12
2. Poruchy růstu	14
3. Deficit růstového hormonu	15
3.1. Septo-optická dysplázie	16
3.2. Geneticky podmíněné poruchy embryonálního vývoje hypofýzy	16
3.2.1. Poruchy morfogeneze hypofýzy	18
3.2.1.1. <i>HESX1</i>	18
3.2.1.2. <i>PITX1, PITX2</i>	18
3.2.1.3. <i>LHX3, LHX4</i>	19
3.2.2. Poruchy organogeneze hypofýzy	19
3.2.2.1. <i>PROP1</i>	20
3.2.2.2. <i>POU1F1</i>	21
3.3. Geneticky podmíněný izolovaný deficit růstového hormonu	22
3.3.1. <i>GHRH-R</i> gen	22
3.3.2. <i>GH1</i> gen	23
4. Léčba růstovým hormonem	25
Část B - publikované články	
5. Septo-optická dysplázie	26
5.1. Článek 1: Septo-optická dysplázie	26
5.2. Článek 2: Septo-optická dysplázie: morfologické, oftalmologické a endokrinní nálezy u 11 pacientů	36
5.3. Článek 3: Refining clinical phenotypes in septo-optic dysplasia based on MRI findings	47
6. Geneticky podmíněné formy GHD	64
6.1. Článek 4: Auxological and endocrine phenotype in a population-based cohort of patients with <i>PROP1</i> gene defects	64
6.2. Článek 5: Morfologie hypofýzy u pacientů s kombinovaným deficitem pituitárních hormonů na podkladě mutace v <i>PROP1</i> genu	85
7. Léčba růstovým hormonem	99
7.1. Článek 6: Validation of a mathematical model predicting the response to growth hormone treatment in prepubertal children with idiopathic growth hormone deficiency	99
Literatura	109
Publikační činnost	122

Seznam zkratek

ACTH	adrenocorticotrophic hormone, adrenokortikotropní hormon
CNS	centrální nervový systém
<i>DAX1</i>	DSS-AHC critical region on the X chromosome 1, gene 1
DNA	deoxyribonukleová kyselina
FSH	folikulostimulační hormon
GH	growth hormone, růstový hormon
<i>GH1</i>	gen pro růstový hormon
GHD	growth hormone deficiency, deficit růstového hormonu
GHRH	growth hormone releasing hormone
<i>GHRH</i>	gen pro GHRH
GHRH-R	growth hormone releasing hormone receptor
<i>GHRH-R</i>	gen pro GHRH-R
<i>HESX1</i>	homeobox gene expressed in es cells
IGFBP	insulin-like growth factor binding protein, vazebný protein pro IGF-I
IGF-I	insulin-like growth factor I
IGHD	isolated growth hormone deficiency, izolovaný deficit růstového hormonu
IUGR	intrauterine growth retardation, intrauterinní růstová retardace
<i>KAL1</i>	Kallmann syndrome 1 gene, gen pro Kallmannův syndrom
LH	luteinizační hormon
<i>LHX3</i>	lim homeobox gene 3
<i>LHX4</i>	lim homeobox gene 4
MPHD	multiple pituitary hormone deficiency, kombinovaný deficit hormonů hypofýzy
<i>NEUROD1</i>	neurogenic differentiation factor D1
<i>PIT1</i>	pituitary-specific transcription factor 1 (jiný název pro <i>POU1F1</i>)
<i>PITX1</i>	paired-like homeodomain transcription factor 1
<i>PITX2</i>	paired-like homeodomain transcription factor 2
<i>POU1F1</i>	POU domain, class 1, transcription factor 1
PRL	prolaktin
<i>PROP1</i>	prophet of <i>PIT1</i>
SF1	splicing factor 1
SMS	somatostatin
SOD	septo-optická dysplázie
<i>T-PIT</i>	T-box factor, pituitary
TSH	tyreostimulační hormon

Shrnutí

Dětský růst je komplexní proces změn organismu, který může být narušen různými onemocněními včetně endokrinních poruch, zvláště deficitu růstového hormonu. Postnatální příčinou GHD jsou tumory či jiné procesy postihující hypotalamo-hypofyzární oblast, prenatální zahrnují 1) poruchu vývoje hypofýzy jako součást komplexních syndromů, 2) poruchu vývoje hypofýzy při defektech v regulačních genech a 3) defekty v genech podílejících se na syntéze a sekreci GH.

Prvním tématem předložené práce byla septo-optická dysplázie – komplexní syndrom zahrnující hypoplázi optických nervů, morfologické anomálie mozku a funkční poruchy hypofýzy. U 11 českých pacientů jsme extenzivně popsali fenotyp a zaznamenali jsme úplné formy SOD i formy neúplné se všemi kombinacemi dvou ze tří základních znaků syndromu. Kohorta se pak stala součástí mezinárodní studie 68 pacientů, ve které jsme studovali fenotyp v závislosti na morfologii mozku. Nalezli jsme korelaci mezi závažností klinických projevů a stupněm anomálie septum pellucidum a nově jsme popsali korelaci mezi výskytem anomálií hippokampu a falxu a neurologickými příznaky.

Druhým tématem bylo ve skupině 74 pacientů s kombinovaným deficitem hormonů hypofýzy hledání mutací v genech regulujících vývoj hypofýzy (*HESX1*, *PROP1* a *POU1F1*) a podrobný popis fenotypu. Po extrakci DNA a amplifikaci kódujících oblastí genů jsme provedli screening mutací metodou dHPLC a jejich potvrzení přímou sekvenací. Nalezli jsme dominantní mutaci v genu *POU1F1* u jednoho pacienta a recesivní mutace v genu *PROP1* u 18 pacientů, jejichž fenotyp byl dále podrobně zkoumán. Zaznamenali jsme současný výskyt deficitu TSH a PRL při diagnóze GHD a pozdější rozvoj deficitu ACTH. Růst pacientů byl mírně ovlivněn již prenatálně, růstová porucha progredovala v prvních letech života. Věková distribuce morfologických nálezů na hypofýze podpořila teorii, že v útlém dětství dochází k hyperplázii hypofýzy s její následující spontánní regresí.

Třetím řešeným tématem bylo ověřování platnosti matematických predikčních modelů růstu při substituční léčbě GH na nezávislé kohortě 38 pacientů. S výjimkou modelu pro první rok léčby zahrnující hodnoty GH v zátěžovém testu a modelu pro šestý rok léčby měly ostatní modely tendenci podhodnocovat růstovou rychlost, což

Ize vysvětlit hlubším deficit GH, menším podílem genetických faktorů na malém vzrůstu pacientů a vyšší frekvence injekcí GH v naší kohortě.

Klíčová slova

růstový hormon, deficit růstového hormonu, septo-optická dysplázie, *HESX1*, *PROP1*, *POU1F1*, predikční model růstu

Summary

Growth in childhood is a complex process of changing the body, which can be disrupted by various illnesses including endocrine disorders, particularly growth hormone deficiency. Tumors or other processes affecting hypothalamic-pituitary area can be a postnatal cause of GHD; prenatal causes include 1) developmental disorders of the pituitary as part of complex syndromes, 2) developmental disorders of the pituitary due to defects in regulatory genes and 3) defects in genes involved in the synthesis and secretion of GH.

The first topic of the thesis was septo-optic dysplasia - a complex syndrome involving optic nerve hypoplasia, structural brain abnormalities and pituitary dysfunctions. We extensively described phenotype in 11 Czech patients; we observed both complete SOD and incomplete forms variously combining two of the three main components of the syndrome. The cohort then became a part of an international study of 68 patients, in which we studied the phenotype in dependence on the brain morphology. We found correlation between the severity of clinical symptoms and the degree of septum pellucidum abnormalities and also a correlation between hippocampus and falx abnormalities and neurological symptoms.

As the second topic we studied genes regulating pituitary development (*HESX1*, *PROP1* and *POU1F1*) in a group of 74 patients with combined pituitary hormone deficiency and a detailed phenotype of the found mutations. After DNA extraction and amplification of coding regions we screened for mutations using dHPLC and confirmed them using direct sequencing. We identified a dominant-inherited mutation in *POU1F1* gene in one patient and recessive mutations in *PROP1* gene in 18 patients whose phenotype was then investigated in detail. We observed TSH and PRL deficiency diagnosed at the same time as GHD and ACTH deficiency developing later in life. Growth of the patients was slightly affected prenatally; growth failure progressed in the first years of life. The age distribution of morphologic findings on the pituitary supports the theory that the pituitary becomes hyperplastic in early childhood and then regresses spontaneously.

The third issue solved was validation of mathematical models predicting growth during GH replacement therapy on an independent cohort of 38 patients. With the exception of the model for the first year of treatment including GH stimulated values

and the model for the sixth year of treatment, the other models tended to underestimate height velocity, which can be explained by more severe GHD, less expressed role of genetic factors on the short stature of patients and higher frequency of GH injections in our cohort.

Keywords

growth hormone, growth hormone deficiency, septo-optic dysplasia, *HESX1*, *PROP1*, *POU1F1*, growth predicting model

Cíle

Cílem dizertační práce bylo rozšířit znalosti o genetické a humorální regulaci růstu zaměřením se na několik dílčích témat.

Prvním cílem bylo **vyhledat české pacienty se septo-optickou dysplázií** a podrobně **zmapovat jejich fenotyp**, a to jak na úrovni národní (kapitola 5.1 a 5.2), kde dosud nebyla podobná studie provedena, tak i v rámci rozsáhlé studie mezinárodní (kapitola 5.3).

Druhým cílem bylo **vyhledat** mezi českými pacienty s GHD **kandidáty s klinickým podezřením genový defekt** v jednom z vybraných genů (*GH1*, *GHRH-R*, *HESX1*, *PROP1*, *POU1F1*). Analýzou DNA jsme chtěli **zjistit četnost výskytu mutací** v uvedených genech. V kohortě pacientů s již identifikovaným genovým defektem jsme si následně dali úkol **extenzivně popsat jejich fenotyp** se zvláštním zaměřením na auxologické parametry (kapitola 6.1) a morfologii hypofýzy (kapitola 6.2).

Třetím cílem bylo na nezávislé kohortě pacientů **ověřit spolehlivost Rankeho predikčního modelu růstu** pro pacienty léčené GH (kapitola 7).

Část A - přehled problematiky

1. Růst

Růst dětského organismu je komplexní proces představující nejen prosté **zvětšování tělesných rozměrů**, ale i **diferenciaci a zrání jednotlivých tkání** a jejich funkčního zapojování v přesně určených vývojových obdobích. Řízení tohoto nesmírně náročného procesu zahrnuje mnoho regulačních systémů, které v průběhu celého období růstu hrají různě významnou roli.

Růst dítěte je výsledkem vzájemného **působení genetických a environmentálních faktorů**. Genetické faktory zahrnují obtížně uchopitelný růstový potenciál, který je určen **genetickým vybavením získaným od rodičů** a který je do určité míry kvantifikovatelný posouzením výšky rodičů. Dalším důležitým genetickým faktorem je **pohlaví** jedince. Z faktorů prostředí hraje zásadní roli **zdravotní stav** dítěte, **adekvátní výživa a psychosociální podmínky**.

V období od narození do ukončení růstu lze rozlišit tři období, která se významně liší regulačními mechanismy a různým podílem na celkovém růstu jednotlivce. Tato období nejsou ostře oddělena a plynule na sebe navazují.

Infantilní růstové období bezprostředně navazuje na intrauterinní růst a trvá přibližně do konce druhého roku života. Je to období **největší růstové rychlosti** v celém postnatálním životě, ve kterém se jen málo uplatňuje genetický růstový potenciál. V regulaci infantilního růstového období hrají klíčovou roli především **IGF-I a vazebné proteiny pro IGF-I** (IGFBP-1 až IGFBP-6).

Dětské růstové období je charakterizováno postupným uplatňováním **genetického růstového potenciálu** a klidným a plynulým růstem až do začátku puberty. Dětská komponenta růstu se začíná uplatňovat v druhé polovině prvního roku života a její účinek přetrvává až do ukončení růstu. Klíčovým regulátorem růstu v tomto období je **osa růstový hormon - IGF-I**.

Posledním růstovým obdobím je **pubertální růst**. Začíná s aktivací osy hypothalamus-hypofýza-gonády a jeho celkové trvání je 4-5 let. Fyziologickým podkladem pubertálního růstu souhra dvou hormonálních mechanismů: **osy GH-IGF-**

I a osy hypotalamus-hypofýza-gonády. Růst je charakterizován výrazným zvýšením růstové rychlosti následovaným postupným vyčerpáním růstového potenciálu vedoucím k definitivnímu **ukončení růstu** a zároveň rozvojem sexuálních znaků a **dosažením pohlavní zralosti**.

2. Poruchy růstu

Růstová retardace může být výsledkem mnoha různých mechanismů. Nejrozsáhlejší skupinou jsou děti tzv. **short-normal**. Buď se jedná o děti malých rodičů (tzv. **familiární malý vzrůst**) nebo o děti s **konstitučním opožděním růstu a puberty**. Pro obě varianty je typická absence zdravotní poruchy spojené s růstovou retardací a dospělou výškou v souladu s rodičovskou predikcí a obě varianty jsou hodnoceny jako varianta normálu.

Druhou skupinou jsou děti s **chronickým systémovým onemocněním** nejrůznější povahy. Porucha růstu je v tomto případě symptomem, který může v některých případech jako první či dokonce jako jediný projev upozornit na probíhající závažné onemocnění.

Třetí skupinou jsou děti s **onemocněním z oblasti klasické genetiky**. S poruchou růstu se pojí většina **chromozomálních aberací** i celá řada **dysmorfických syndromů**. Jejich detekce může být při přítomnosti typických znaků relativně jednoduchá, u méně nápadných stavů však může být porucha růstu prvním projevem.

Poslední skupinou - nikoli však významem - jsou děti s **endokrinní poruchou**. K poruše růstu vedou **nedostatek hormonů štítné žlázy, nadbytek glukokortikoidů, předčasná produkce pohlavních hormonů**, největší část dětí s endokrinopatií jako příčinou růstové retardace však tvoří děti s **deficitem růstového hormonu**.

3. Deficit růstového hormonu

Deficit růstového hormonu (GHD) je relativně častou endokrinní poruchou s četností výskytu 1:2000-10000 živě narozených.

Klasicky se u dětí rozlišuje **GHD idiopatický**, který tvoří 70-80% všech případů, a **GHD organicky podmíněný**, který tvoří zbývajících 20-30% případů GHD. Poruchy vedoucí k manifestaci GHD mohou být **vrozené** - v tom případě je GHD dosud obvykle klasifikován jako idiopatický, nebo **získané**.

Nejčastější příčinou **získaného GHD** jsou **tumory hypotalamo-hypofyzární oblasti** a z nich nejvíce kraniofaryngom. Porucha růstu v důsledku GHD je často prvním projevem a její včasné zachycení pak může být rozhodujícím faktorem pro další prognózu dítěte. Dalšími nádory postihujícími tuto oblast jsou germinom, gliom optiku či vzácně adenom hypofýzy. Zvláštním případem je histiocytoza z Langerhansových buněk. **Radioterapie** zasahující oblast hlavy, je další častou příčinou získaného GHD. Poruchu funkce hypofýzy nevyvolává pouze přímé ozáření tumorů hypotalamo-hypofyzární oblasti, ale i radioterapie intrakraniálních tumorů v jiných lokalizacích, celotělové ozáření před transplantací kostní dřeně nebo profylaktické ozáření CNS v rámci komplexní terapie leukemií. Vzácnými příčinami postnatálně získaného GHD jsou **autoimunní hypofyzitida** (např. v rámci autoimunního polyglandulárního syndromu), **purulentní meningitida** či **trauma lebky**.

Na pomezí **mezi vrozenými a získanými formami GHD** stojí pacienti s perinatální patologií, u kterých dochází k poškození hypofýzy nejčastěji **přerušením stopky hypofýzy při porodu koncem pánevním** nebo destrukcí tkáně hypofýzy v důsledku **perinatální asfyxie či krvácení**.

Nové poznatky o embryonálním vývoji hypofýzy a jeho regulaci na molekulární úrovni přispívají k objasnění některých forem idiopatického GHD. S dalším rozšiřováním poznatků o molekulárních regulačních mechanismech vývoje hypofýzy a jejich postupným zaváděním do klinické praxe lze očekávat zpřesnění diagnostiky různých forem GHD a postupné zmenšování skupiny dětí s idiopatickým GHD ve prospěch pacientů s jasně definovaným genovým defektem.

Znamé **prenatální příčiny GHD** lze schematicky rozdělit na tři skupiny:

1. porucha embryonálního vývoje hypofýzy jako **součást komplexního syndromu**

2. porucha embryonálního vývoje hypofýzy v důsledku definovaných **defektů v regulačních genech**
3. porucha syntézy a sekrece růstového hormonu v důsledku definovaných **defektů v genech podílejících se na syntéze a sekreci růstového hormonu.**

První skupina zahrnuje fenotypicky definované syndromy, u kterých se kromě poruchy funkce hypofýzy vyskytují i další typické malformace. Většina těchto syndromů se vyskytuje pouze ojediněle (holoprosencefalie, syndrom solitárního maxilárního řezáku, aj.), relativně častou jednotkou z této skupiny je syndrom **septo-optická dysplazie**.

Do druhé skupiny se řadí pacienti s narušením embryonálního vývoje hypofýzy v důsledku defektu v některém z genů kódujících **transkripční faktory** - regulační proteiny, které ve složité časové a prostorové provázanosti regulují genovou expresi ve vyvíjející se hypofýze. U člověka byly dosud popsány genové defekty v genech **HESX1**, **PITX2**, **LHX3**, **LHX4**, **PROP1** a **POU1F1**. Vzhledem ke komplexnímu narušení vývoje hypofýzy se defekty v uvedených genech většinou manifestují jako **kombinovaný deficit hormonů hypofýzy** (multiple pituitary hormone deficiency - **MPHD**).

Třetí skupina zahrnuje pacienty s **izolovaným GHD (IGHD)** v důsledku defektu v genech kódujících **strukturální proteiny osy růstového hormonu**. Narušení správného fungování této osy pak vede k poruše syntézy a sekrece GH nebo k produkci GH s pozměněnou molekulou a účinkem. U člověka byly dosud popsány genové defekty v genu **GH1** (gen pro růstový hormon) a genu **GHRH-R** (gen pro receptor pro GH-releasing hormon).

3.1. Septo-optická dysplazie

(Téma je zpracováno v níže uvedeném přehledném článku. (Kap. 5.1.))

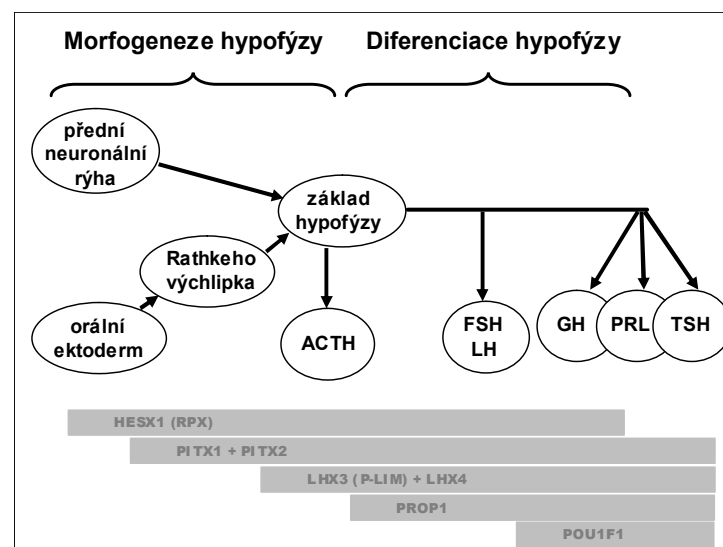
3.2. Geneticky podmíněné poruchy embryonálního vývoje hypofýzy

Hypofýza je ústředním orgánem endokrinního systému člověka. Je to nevelký orgán umístěný na spodině mozku, který je složený z předního (adenohypofýza) a

zadního (neurohypofýza) laloku. **Adenohypofýza** obsahuje pět hlavních buněčných linií odpovědných za sekreci jednotlivých hormonů. **Somatotrofy** produkují **růstový hormon**, **thyreotrofy TSH**, **kortikotrofy ACTH**, **gonadotrofy FSH a LH** a **laktotrofy prolaktin**. **Neurohypofýza** obsahuje gliovou tkáň, do které prorůstají **axony sekrečních neuronů** lokalizovaných v hypotalamu, které produkují **oxytocin** a **vazopresin**.

Zralá diferencovaná hypofýza vzniká ze dvou buněčných základů - tkáňe orálního ektodermu (**Rathkeho výchlípka**) jsou materiálem pro **vznik adenohypofýzy**, zatímco tkáňe **přední neuronální rýhy** se formují do **základů neurohypofýzy**. Tento vývoj probíhá ve dvou kvalitativně odlišných stupních - v první fázi (**morfogeneze**) se formuje makroskopický základ budoucí hypofýzy a v druhé fázi (**organogeneze, diferenciace**) dochází v již vytvořeném základu hypofýzy k diferenciaci jednotlivých buněčných linií a tím k postupnému utváření mikroskopické struktury zralé hypofýzy.

Obr. 1 Schéma vývoje hypofýzy



Proces vývoje hypofýzy je řízen geny kódujícími **transkripční faktory** - intranukleární proteiny, které se váží na specifické úseky DNA a tím **aktivují nebo naopak suprimují expresi** dalších genů. Na regulaci **morfogeneze hypofýzy**, ale také okolních tkání, se podílejí především geny **HESX1**, **PITX1**, **PITX2**, **LHX3** a **LHX4**. Jejich **defekty** narušují vývoj hypofýzy ve velmi raných stádiích a vedou proto

ke **kombinovanému deficitu hormonů hypofýzy** spojenému s **dalšími vývojovými anomáliemi**. Následná **diferenciace** jednotlivých **buněčných linií** se děje pod regulačním vlivem dalších transkripčních faktorů, především **PROP1** a **POU1F1**, ale také některých dalších. Každý z těchto faktorů působí ve specifické fázi diferenciace, což při genovém defektu vede ke **specifickému endokrinnímu fenotypu**.

3.2.1. Poruchy morfogeneze hypofýzy

3.2.1.1. HESX1

První transkripční faktor, který se podílí na morfogenezi hypofýzy, je **HESX1**. Je to protein o 185 aminokyselinách, který je **exprimován** v tvořící se hypofýze i v okolních tkáních již **od nejranějších fází vývoje**. Po zformování základu hypofýzy jeho exprese postupně ustává a v době exprese faktoru **POU1F1** již není přítomna. Na útlumu exprese tohoto faktoru se pravděpodobně podílí narůstající exprese faktoru **PROP1**. Gen pro **HESX1** je lokalizován na chromozomu 3p. U člověka byly vzácně popsány **defekty** v tomto genu u jedinců s **klinickým obrazem septo-optické dysplázie** s hypoplazií optických nervů s poruchou zraku, morfologickými anomáliemi středočárových struktur mozku (septum pellucidum, corpus callosum, fornix) a hypopituitarismem. Nově byl popsán **heterozygotní výskyt** genového defektu genu **HESX1** u dětí s **mírnou formou SOD** nebo **hypoplazií hypofýzy** s hormonálními deficity ale **bez morfologických anomálií**.

3.2.1.2. PITX1, PITX2

Transkripční faktory **PITX1** a **PITX2** se exprimují **od časných fází vývoje** hypofýzy po celou dobu jejího vývoje a dále i **ve zralé hypofýze**. U vyvíjejícího se embrya jejich exprese definitivně **odliší buňky** tvořící základ **Rathkeho výchlípku** od okolních buněk orálního ektodermu. Během dalšího vývoje se podílejí i na **diferenciaci** jednotlivých **buněčných linií**. **PITX1** je exprimován především v kortikotrofech, expresi **PITX2** je pak detekovatelná v somatotrofech, thyreotrofech, gonadotrofech a laktotrofech.

Defekt v genu **PITX2** byl nalezen u pacientů s **Riegerovým syndromem**. Fenotyp těchto pacientů zahrnuje **hypopituitarismus**, **anomálie** předního segmentu **oka**, **hypoplazii zubů** a v některých případech **mentální retardaci**. Přenos mutace je autozomálně dominantní.

3.2.1.3. LHX3, LHX4

Brzy **po začátku formování Rathkeho výchlípky** je zahájena exprese transkripčních faktorů *LHX3* a *LHX4*. Ty zajišťují, aby se Rathkeho výchlípka definitivně **oddělila od tkáně orálního ektodermu** a vytvořila **základ samostatného orgánu**. Jejich exprese pak přetrvává **po celou dobu vývoje** hypofýzy, kdy se podílejí na **diferenciaci jednotlivých buněčných linií**.

Defekt v genu *LHX3* byl zatím popsán v několika rodinách, ve kterých se detekovaná mutace dědí autozomálně recesivně. Pacienti měli **kombinovaný deficit** všech hormonů adenohypofýzy **s výjimkou ACTH**. **Hypofýza** byla **zvětšená nebo** naopak **zmenšená**. Kromě toho byla u prvních detekovaných pacientů nápadná rigidita krční páteře s výrazně omezenou rotací. U dalších pacientů však již tento rys zaznamenán nebyl.

Defekt v genu *LHX4* byl dosud také popsán pouze ojediněle. Dědičnost byla autozomálně dominantní. Pacienti měli **kombinovaný deficit GH, TSH a ACTH**, **hypoplastickou hypofýzu** v nedostatečně vyvinutém tureckém sedle, **ektopickou neurohypofýzu** a **anomálie mozečku**.

Tab. 1 Geneticky podmíněné poruchy morfogeneze hypofýzy – přehled

gen	typ dědičnosti	fenotyp
<i>HESX1</i>	AR, AD	homozygoti – syndrom septo-optická dysplázie heterozygoti – GHD bez morfologických anomálií
<i>PITX2</i>	AR	Riegerův syndrom – hypopituitarismus, anomálie předního segmentu oka, hypoplázie zubů, někdy mentální retardace
<i>LHX3</i>	AR	deficit GH, TSH, FSH/LH, PRL, anomálie hypofýzy, u některých pacientů rigidita krční páteře s omezenou rotací
<i>LHX4</i>	AD	deficit GH, TSH, ACTH, hypoplázi hypofýzy, ektopie neurohypofýzy, anomálie mozečku

3.2.2. Poruchy diferenciace hypofýzy

Na morfogenezi hypofýzy plynule navazuje **diferenciace** jednotlivých buněčných linií adenohypofýzy **z nezralých** pluripotentních **buněk**. Tento proces probíhá v několika stupních. Jako **první**, ještě před ukončením morfogeneze, se diferencují **kortikotrofy**. k jejich diferenciaci je nezbytná funkce transkripčních faktorů *HESX1*, *PITX1*, *LHX4* a dále *T-PIT*, *NEUROD1* a zřejmě i *PROP1*.

Po diferenciaci kortikotrofů **následuje** diferenciacie **gonadotrofů**, která probíhá za působení faktorů *KAL1*, *DAX1*, *SF1* a *PROP1*.

V závěrečné fázi se zbylé pluripotentní buňky diferencují v **somatotrofy**, **thyreotrofy** a **laktotrofy**, což se děje především pod vlivem faktorů *PROP1* a *POU1F1*.

3.2.2.1. PROP1

Transkripční faktor *PROP1* protein o délce 226 aminokyselin, jehož exprese je nezbytná pro **regulaci exprese** genu *POU1F1* a pravděpodobně hraje i důležitou roli v **ukončení exprese** genu *HESX1*. Je kódován genem uloženým na chromozomu 5q.

Mutace v genu *PROP1* jsou mezi pacienty s kombinovaným pituitárních deficitem **v našich podmínkách** relativně **nejčastější** - v české národní studii byl defekt v tomto genu nalezen u 22% dětí. Mutace v genu *PROP1* vedou ke vzniku **kombinovaného deficitu hormonů hypofýzy** zahrnujícího deficit **GH, TSH, PRL a FSH/LH**, **později** v životě dochází i k rozvoji deficitu **ACTH**. GHD obvykle vede k výrazné redukci výšky, vzácně byl u pacientů s defektem v *PROP1* genu popsán i normální růst a normální dospělá výška. Hormonální **deficity** se mohou rozvíjet **již během dětství**, ale i **později v životě**, mají však **progresivní charakter** a postupně dojde k rozvoji úplného fenotypu.

Obvyklým nálezem u pacientů s *PROP1* mutací při zobrazovacím vyšetření hypofýzy je **malá nebo normální adenohipofýza** s normálně konfigurovanou neurohypofýzou, **u některých** pak bývá popisována **hyperplázie předního laloku hypofýzy** připomínající tumor. Biopsie z hyperplastické hypofýzy je nespecifická, s přítomností amorfního materiálu, nejsou identifikovatelné žádné specifické buněčné linie. **Zvětšení hypofýzy není stacionární**, buněčné masy mají **tendenci regredovat**, což vyúsťuje v hypoplazii hypofýzy až v obraz empty sella.

Mechanismus vzniku hyperplázie a následné regrese buněčné masy není znám. Vzhledem k tomu, že jednou z předpokládaných funkcí genu *PROP1* je účast na ukončení exprese časově předcházejících transkripčních faktorů *HESX1* a *LHX3*, nabízí se vysvětlení, že prodloužená exprese *HESX1* a *LHX3* genů umožňuje delší přežívání a množení nediferencovaných prekurzorových buněk a teprve opožděné vyhasínání aktivity těchto transkripčních faktorů pak vede k regresi hyperplastické hypofýzy. **Hyperplastická hypofýza** bývá detekovatelná **v prvních dvou, nejvýše**

třech dekádách života a může vést k záměně s nádorem hypotalamo-hypofyzární oblasti a následnému zbytečnému neurochirurgickému výkonu.

3.2.2.2. POU1F1

Transkripční faktor *POU1F1* (alternativní název *PIT1*) je nejdéle známým pituitárním transkripčním faktorem (identifikace genu 1988, první mutace u člověka prokázána 1992). Jeho exprese začíná **v návaznosti na** expresi **PROP1** a po ukončení exprese *HESX1* a přetrvává **i ve zralé hypofýze**. Je detekovatelný **v somatotrofech, thyreotrofech a laktotrofech**, pro jejichž diferenciaci je jeho účinek nezbytný. *POU1F1* je protein o délce 291 aminokyselin a ve své struktuře obsahuje DNA-vazebnou doménu a transaktivační doménu. Gen kódující jeho sekvenci je lokalizován na chromozomu 3p.

Dědičnost genových defektů je v závislosti na lokalizace mutace v genu autozomálně dominantní (mutace v oblasti transaktivační domény) nebo autozomálně recesivní (mutace v oblasti DNA-vazebné domény).

Genové defekty v *POU1F1* genu vedou již během prvního roku života k těžké růstové retardaci a typickým fenotypem (prominující čelo, malý nos s vpáčeným kořenem) na podkladě **těžkého deficitu GH a centrální hypotyreóze** v důsledku chybění TSH. Mají i velmi **nízké hladiny prolaktinu**, což ovšem nevyvolává v dětství klinické příznaky. Hladiny **ACTH** jsou **trvale normální**, díky intaktní sekreci gonadotropinů pacienti **normálně dospívají** a ženy mohou otěhotnět. Kvůli deficitu prolaktinu však nemohou po porodu kojit.

Hypofýza pacientů s defektem *POU1F1* je od narození **menší** a její objem s věkem klesá. Na rozdíl od *PROP1* defektů nedochází k přechodné hyperplazii hypofýzy.

Tab. 2 Geneticky podmíněné poruchy diferenciacie hypofýzy – přehled

gen	typ dědičnosti	fenotyp
<i>PROP1</i>	AR	deficit GH, TSH, PRL, FSH/LH, později ACTH, hyperplazie hypofýzy následovaná její hypoplazií
<i>POU1F1</i>	AR, AD	deficit GH, TSH, PRL

3.3. Geneticky podmíněný izolovaný deficit růstového hormonu

Růstový hormon je syntetizován, skladován a následně **secernován somatotropními buňkami** předního laloku hypofýzy. Hypofýza není v syntéze a sekreci GH autonomní, ale podléhá **regulaci nadřazených center** v hypotalamických jádrech (nucleus arcuatus), která je uskutečňována prostřednictvím souhry mezi stimulační aktivitou **GH-releasing hormonu** (GHRH) a inhibiční aktivitou **somatostatinu** (SMS), které se váží na specifické receptory somatotropních buněk.

Příčinou vrozeného izolovaného GHD může být **defekt v genu** pro receptor GHRH (**GHRH-R** gen) **nebo** genu pro růstový hormon (**GH1**). Teoreticky by mohl mít obdobný efekt i defekt v genu pro GHRH, ten však nebyl dosud u člověka popsán. Příbuzným stavem je pak i defekt v receptoru pro GH. Toto onemocnění (Laronův syndrom) u člověka popsáno bylo, a ač fenotyp pacientů připomíná pacienty s těžkým deficitem GH, nejedná se skutečný deficit GH. Hladiny GH jsou naopak zvýšené a tento stav není možno růstovým hormonem léčit.

3.3.1. *GHRH-R* gen

GHRH-R patří do skupiny transmembránových receptorů spojených s G-proteiny.

Gen kódující jeho molekulu je lokalizován na chromozomu 7p15-p14 a je **exprimován** v předním laloku hypofýzy, především **na somatotropní buněčné linii**.

První popsaná **mutace** genu *GHRH-R* byla nalezena u několika členů indické rodiny. Způsobuje výrazné zkrácení molekuly receptoru, který úplně postrádá extracelulární doménu. Pacienti měli typické **prominující čelo a obezitu v oblasti trupu**. Ve standardních stimulačních testech ani v testech s GHRH u nich **nedocházelo k vyplavování GH**. Typickým nálezem při zobrazovacím vyšetření mozku byla **hypoplastická hypofýza**. Stejná mutace byla nalezena u rodiny pocházející ze Sri Lanky a další rodiny z Pákistánu. V genu *GHRHR* bylo dosud identifikováno několik dalších mutací - bodové mutace v exonech, splice site mutace způsobující výrazné zkrácení molekuly receptoru nebo bodové mutace v oblasti vazebného místa pro faktor *POU1F1*.

3.3.2. GH1 gen

Růstový hormon je protein složený ze 191 aminokyselin, o molekulové hmotnosti 22 kDa. Méně často se vyskytuje ve formě proteinu o molekulové hmotnosti 20 kDa vznikající alternativním splicingem nebo ve formě dimerů a oligomerů. Jeho struktura je kódována genem *GH1* lokalizovaným na chromozomu 17q22-q24, kde je součástí klastru blízce příbuzných genů, který zabírá oblast o velikosti 66,5 kb.

V genu *GH1* bylo již nalezeno množství mutací - rozsáhlé delece, při nichž dochází ke ztrátě 6,7 kb, 7,0 kb, 7,6 kb či dokonce 45 kb, mikrolece vedoucí ke změně čtecího rámce a bodové substituční mutace.

Mutace v genu *GH1* vedou ke třem klinicky rozdílným typům IGHD. Jejich společnými znaky je **časná růstová retardace** s malou dospělou výškou, **typická facies** (prominující čelo, malý nos s vpáčeným kořenem) a **normální funkce ostatních hormonů hypofýzy**.

IGHD typ 1A je charakterizován **autozomálně recesivním** typem dědičnosti. Rozsáhlé delece, mikrolece a bodové substituční mutace způsobují u postižených jedinců **úplné chybění** molekuly **GH**, což při substituční léčbě GH vede k **produkci protilátek proti GH** a následně k inhibici jeho účinku.

IGHD typ 1B je přenášen také **autozomálně recesivně**. Jeho molekulárním podkladem jsou jiné typy mutací - nejčastěji splice site mutace, které vedou k produkci malého, ale **detekovatelného množství GH** se zkrácenou a **nefunkční molekulou**. Porucha růstu bývá méně závažná než v předchozím případě a pacienti obvykle dobře reagují na substituční terapii GH, při níž u nich **nevznikají protilátky** proti GH.

IGHD II má **autozomálně dominantní** typ dědičnosti a molekulárním podkladem jsou splice site nebo bodové substituční mutace s **dominantně negativním efektem** způsobeným inhibicí dimerizace receptoru pro GH, která je po navázání molekuly GH na receptor nezbytnou podmínkou pro přenos signálu intracelulárně. Klinická závažnost růstové retardace se mezi jednotlivými postiženými jedinci liší. **Odpověď na substituční léčbu** bývá **dobrá**.

Tab. 3 Geneticky podmíněný deficit IGHD - přehled

gen	typ dědičnosti	fenotyp
<i>GHRH-R</i>	AR	deficit GH, hypoplazie hypofýzy
<i>GH1</i>	AR	IGHD IA – velmi těžká růstová porucha, při léčbě GH tvorba protilátek proti GH, špatná reakce na léčbu
	AR	IGHD IB – těžká růstová porucha, při léčbě GH bez tvorby protilátek proti GH, dobrá reakce na léčbu
	AD	IGHD II – růstová porucha různé závažnosti, při léčbě GH bez tvorby protilátek proti GH, dobrá reakce na léčbu

4. Léčba růstovým hormonem

Historie léčby růstovým hormonem sahá do roku 1958, kdy byl poprvé použit k léčbě pacienta s GHD. V prvních desetiletích byl používán **extrakční hormon** z lidských hypofýz a vzhledem k jeho omezené dostupnosti byla léčba vyhrazena jen pro pacienty s těžkým GHD. K významnému posunu v léčbě došlo v roce 1985. V tomto roce byl po průkazu přenosu smrtelné Creutzfeldtovy-Jakobovy nemoci z trhu stažen extrakční růstový hormon a v témže roce byl naopak na trh uveden **růstový hormon vyráběný rekombinantní technologií**. Jeho prakticky neomezené množství umožnilo jednak plnou léčbu všech potřebných pacientů s GHD a jednak **výzkum dalších možných indikačních oblastí**. Postupně začali být kromě dětí s GHD léčeni pacientky s **Turnerovým syndromem**, děti s **chronickou renální insuficiencí**, s **Prader-Williho syndromem**, s růstovým selháním navazujícím na intrauterinní růstovou retardaci (**IUGR**) a s **deficitem SHOX genu**. U dospělých pacientů se růstový hormon používá k léčbě **GHD v dospělosti**.

Pacienti **z různých indikačních skupin** reagují různě na léčbu růstovým hormonem a jsou **léčeni podle odlišných léčebných schémat**. Rozsáhlé zkušenosti získané léčbou velkých skupin pacientů potvrzují, že i v rámci jedné indikační skupiny **reagují jednotliví pacienti na léčbu odlišně**, což znesnadňuje optimální dávkování růstového hormonu.

K individualizaci léčebných protokolů byly zpracováním rozsáhlých souborů dat vyvinuty pro jednotlivé indikační skupiny **predikční modely** - matematické rovnice, které s použitím údajů dostupných před zahájením léčby umožňují odhadnout reakci konkrétního pacienta na léčbu a léčbu tak konkrétně přizpůsobit jeho potřebám.

Část B - publikované články

5. Septo-optická dysplázie

5.1. Článek 1

(Vosáhlo J, Srp A, Krásný J. Septo-optická dysplázie. In: Lebl J, et al. Dětská endokrinologie. Praha, Galén 2004:81-9)

Septo-optická dysplázie

Jan Vosáhlo, Antonín Srp, Jan Krásný

Definice

Septo-optická dysplázie (SOD), zvaná také de Morsierův syndrom, je vzácná **vrozená anomálie centrálního nervového systému**, kterou charakterizují **morfologické abnormality středočárových struktur mozku**, jedno- či oboustranná **hypoplázie optických nervů** a **deficit hypotalamo-hypofyzárních hormonů**. Její četnost se odhaduje na 1:50 000.

V současné době se rozlišuje **úplná a neúplná forma SOD**. Za úplnou formu SOD je považována kombinace tří znaků - hypoplázie optických nervů, morfologických anomálií středočárových struktur mozku a hypotalamo-hypofyzární insuficience. Tato forma SOD je méně častá, vyskytuje se u asi 30% všech pacientů s SOD. Pojetí neúplné formy SOD není jednotné. Někteří autoři za ni považují kombinaci kterýchkoli dvou ze tří výše uvedených znaků, podle jiných musí být jedním ze dvou znaků hypoplázie optických nervů.

Historické poznámky

Agenezi septum pellucidum poprvé popsal již v roce 1880 Techiny. V roce 1941 pozoroval Reeves současný výskyt ageneze septum pellucidum a kongenitální amaurozy pro oboustrannou hypoplázií optických nervů u sedmiměsíčního dítěte. O 15 let později popsal de Morsier atrofii optických nervů u devíti pacientů s agenezí septum pellucidum a zavedl pro kombinaci těchto dvou příznaků termín septo-optická dysplázie.

Spektrum příznaků SOD rozšířili v roce 1970 o poruchy hypotalamo-hypofyzárního systému Hoyt a Kaplan, když upozornili na častý výskyt deficitu růstového hormonu u dětí s SOD. V dalších letech pak různí autoři popsalí deficity dalších hormonů hypotalamo-hypofyzárního systému u pacientů s SOD.

Etiopatogeneze

SOD vzniká v důsledku narušení časně fáze vývoje centrálního nervového systému. Jako možná noxa jsou podezřívány **virové infekce** či vliv **chemických látek**. Je popsán výskyt SOD u dětí vystavených během nitroděložního vývoje působení alkoholu a drog či kyseliny valproové, práce prokazující souvislost mezi konkrétní noxou a SOD jsou však ojedinělé.

Zcela jiným přístupem k objasnění etiologie SOD je hypotéza o jejím **vaskulárním původu**. Ta za primární považuje poškození proximálního kmene arteria cerebri media blíže neurčeným mechanismem a vznik charakteristických znaků SOD přikládá ischemickému poškození vyvíjejících se struktur centrálního nervového systému.

Popsaný, nicméně nevysvětlený, je častější výskyt SOD u dětí mladších matek. Genetická příčina SOD nebyla do nedávné doby známa. Ojediněle byl pozorován familiární výskyt naznačující možnou autozomálně recesivní dědičnost. V nedávné době byla jako příčina SOD popsána homozygotní **mutace v genu HESX1** u dvou sourozenců s hypoplázií optiků, agenezí corpus callosum a hypoplázií hypofýzy s panhypopituitarismem. Gen *HESX1* patří do skupiny genů kódujících proteiny, které se ve funkci transkripčních faktorů podílejí na regulaci tkáňové diferenciace; *HESX1*

řídí časné fáze vývoje středních struktur mozku a hypofýzy. Nově byl popsán heterozygotní výskyt mutací genu *HESX1* u dětí s mírnou formou SOD nebo hypoplázií hypofýzy bez morfologických anomálií.

Etiopatogeneze SOD tedy dosud není spolehlivě objasněna. Genetické nálezy do ní sice vnášejí nové světlo, vysvětlují však jen některé případy SOD. I nadále tak zůstává pravděpodobné, že se na vzniku tohoto syndromu spolupodílí více vzájemně interagujících faktorů. Vzhledem k vysoké fenotypové variabilitě tohoto onemocnění je možné, že syndrom SOD v sobě zahrnuje více různých nosologických jednotek, které budou v budoucnu přesněji vymezeny.

Klinický obraz

Perinatální příznaky

Většina dětí s SOD se rodí v termínu, jejich porodní délka, hmotnost i obvod hlavičky jsou normální. U 20-60% těchto dětí však dochází k poruchám postnatální adaptace - mají nízké skóre Apgarové, tendenci k bradykardii, dochází u nich k závažným poruchám dýchání projevujícím se apnoickými pauzami, které někdy mohou vyžadovat i umělou plicní ventilaci, některé tyto děti trpí křečemi. Narušená může být i schopnost udržovat vnitřní prostředí - dochází u nich k hypoglykemiím, elektrolytovým dysbalancím a hyperbilirubinémií.

Na vzniku poruch adaptace se podílí několik faktorů. Morfologické změny mozku mohou postihovat i centra regulující základní životní funkce, která pak ve ztížených podmínkách postnatální adaptace selhávají, jiným možným projevem anomálií mozku je vznik křečí. Časné projevy deficitů hormonů hypofýzy mohou být další příčinou postnatálních komplikací. Deficit růstového hormonu či ACTH může vést k závažným hypoglykemiím, které se projevují křečemi; deficit ADH je příčinou závažných elektrolytových dysbalancí.

U části dětí s SOD je patrný mikropenis - je popisován u 28-50% chlapců.

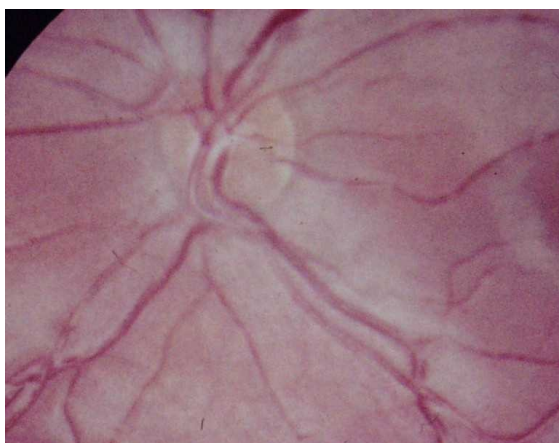
Oční příznaky

Základním příznakem u SOD je jedno- nebo oboustranná **hypoplázie optického nervu**. Většinou je papila zmenšena na polovinu až třetinu normálního průměru a je

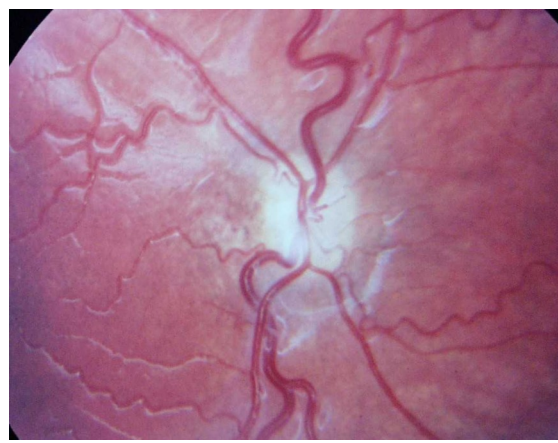
prakticky v rozsahu normálního terče lemována dvojitým prstencem atrofické cévnatky a pigmentového listu sítnice (tzv. double-ring sign). U části pacientů může být redukována na velikost cévní branky a doprovázena výraznou vinutostí cév (obr. 1) a v některých případech je papila jen mírně zmenšená a atrofická. Někdy jsou na discích přítomny **dysplastické změny**, u nichž je popisována asociace s endokrinopatiemi. Možnými nálezy na terči zrakového nervu jsou i kolobomatózní a gliomatózní změny.

Obr. 1 Hypoplázie zrakového nervu

Obr. 1a zachycuje fyziologicky konfigurovaný terč zrakového nervu růžové barvy a normální velikosti s klasickým výstupem cév. Obr. 1b znázorňuje atroficky bledý a hypoplastický terč zrakového nervu velikosti cévní branky s vinutostí vystupujících cév.



1a



1b

Histologicky je hypoplázie optického nervu podmíněna snížením počtu nervových vláken. Je též významně redukován počet sítnicových gangliových buněk, případně mohou zcela chybět. Příčinou je porucha diferenciaci gangliových buněk v průběhu vývoje oční štěrbin. Jejich axony pak neprorostou primitivní papilou do mozku a nevytvoří se funkční zrakový nerv.

Základní diagnostickou metodou hypoplázie optického nervu je fundoskopie s následným hodnocením fotodokumentace očního pozadí. Pro diagnózu hypoplázie optického nervu svědčí, je-li poměr mezi průměrem papily zrakového nervu a vzdálenosti centra papily od foveoly větší než tři. Diagnosticky přesnější je rentgenologické hodnocení průměru optického kanálu. Pravidelné zúžení pod 3,5 mm bývá známkou vrozené hypoplázie. Za patologický se pokládá i stranový rozdíl přesahující 33%.

Poruchy zraku jsou u pacientů s SOD časté. Slepota postihuje 25-50% dětí, závažným postižením zraku jich trpí 30-40%.

Strabismus je pravidelným nálezem u jednostranné formy hypoplázie a může být prvním příznakem SOD, který přivede dítě k lékaři. Častější je úchylka konvergentní než divergentní. Postavení očí nebývá stabilní, což je podmíněno výrazným postižením vidění. Dalším možným očním nálezem je **nystagmus** spojený hlavně s oboustranným postižením zrakového nervu.

Morfologické anomálie

Přestože se dnešní pojetí syndromu septo-optické dysplázie liší od pojetí de Morsiera a nález malformace mozku dnes není nezbytný pro diagnózu SOD, tvoří morfologické anomálie centrálního nervového systému i nadále jeden ze tří základních příznaků tohoto syndromu. Zahrnují **defekty středočárových struktur** mozku, kam patří septum pellucidum, corpus callosum, fornix a hypotalamo-hypofyzární oblast. Popisovány jsou i anomálie mozečku a kortikální malformace.

Aplázie septum pellucidum (obr. 2) se vyskytuje s četností 2-3/100 000. Je původně jedním ze základních příznaků SOD. Při současném chápání syndromu SOD není aplázie septum pellucidum nezbytná pro diagnózu SOD a vyskytuje se v různých sestavách u 20-60% pacientů. Aplázie septum pellucidum není spojena s mentálním ani motorickým defektem.

Obr. 2 Aplázie septum pellucidum (T1W obraz)

U zdravého dítěte (obr. 2a) je na koronárních řezech septum pellucidum patrné jako svislá ploténka ve střední čáře oddělující postranní komory. Obr. 2b dokumentuje agenzi septi pellucidi - postranní komory kompletně splývají.



2a



2b

Aplázie corpus callosum se může vyskytovat v úplné formě, kdy není tato struktura vůbec vytvořena, nebo ve formě neúplné, kdy je corpus callosum zúženo nebo chybí některá jeho část (obr. 3). Méně častou anomálií je **aplázie fornixu**.

Obr. 3 Anomálie corpus callosum (T1W obraz)

Corpus callosum se na sagitálních řezech znázorňuje jako obloukovitý útvar stejné tloušťky, ventrálně ostře zahnutý dopředu a dolů, dorzálně mírně kyjovitě rozšířený. Ventrokaudálně z něj obloukem odstupuje fornix. Obr. 3a znázorňuje normální konfiguraci corpus callosum i fornixu, normální je i hypofýza a ostatní zobrazené struktury.

Obr. 3b zachycuje hypoplázií střední části corpus callosum, ostatní struktury jsou bez zřetelných změn.

Obr. 3c dokumentuje aplázií přední části corpus callosum, ostatní struktury jsou bez zřetelných změn.



3a



3b



3c

Adenohypofýza je u pacientů s SOD často **hypoplastická**, možným nálezem je i **empty sella**. Neurohypofýza je utvářena normálně nebo je dystopická.

Kortikální malformace zahrnují především **schizencefalii** (obr. 4), dále **dystopii šedé hmoty** a **poruchy gyrifikace**. Jsou často spojeny s vývojovým opožděním a motorickými deficity.

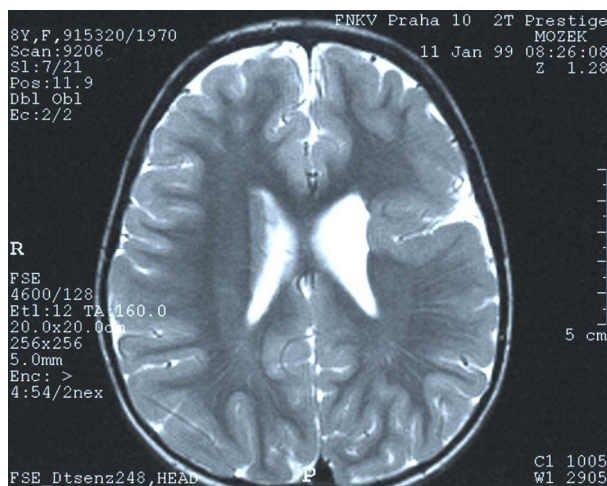
Ojedinele popisovanými anomáliemi jsou arachnoidální cysty, cysty glandula pinealis či hypoplázie čichového traktu a bulbu.

Na základě morfologických anomálií mozku se rozděluje SOD na podtypy s odlišnými charakteristikami. Jedním z používaných dělicích kritérií je přítomnost nebo nepřítomnost schizencefalie, přičemž u první skupiny se častěji vyskytují

oční příznaky a křeče, zatímco druhá skupina častěji trpí hypotalamo-hypofyzárními poruchami.

Obr. 4 Kortikální malformace - schizencefalie (T2W obraz)

Schizencefalie představuje rozštěpení mozkové tkáně způsobující komunikaci mezi intra- a extracerebrálními likvorovými prostory. Na obrázku je schizencefalie patrná jako tenká štěrbina obklopená ektopickou šedou hmotou, která zasahuje až ke kontuře rozšířené levé postranní komory.



3

Endokrinní příznaky

Poruchy hypotalamo-hypofyzárního systému jsou významnou součástí syndromu SOD. Postihují 30-100% pacientů. Jejich spektrum je velmi široké a sahá od **izolovaného deficitu růstového hormonu** přes **kombinované deficity pituitárních hormonů** až k **panhypopituitarismu**. Hormonální postižení není stacionární, pacienti jsou ohroženi **progresivní ztrátou endokrinních funkcí**. Nejčastější popisovanou endokrinopatií je deficit růstového hormonu, kterým je postiženo 40-85% pacientů s SOD. Častý je i deficit ACTH, postižen však může být kterýkoli z hormonů hypotalamo-hypofyzárního systému. Poruchy funkce gonadotropinů se projevují nejen opožděnou či chybějící pubertou, ale v některých případech naopak předčasným nástupem puberty a urychlením pubertálního zrání. Sekrece gonadotropinů zůstává u některých pacientů s SOD zachována i v případě ztráty ostatních hormonů hypofýzy, což je u jiných příčin hypopituitarismu neobvyklé.

Do klinického obrazu SOD patří i **centrální diabetes insipidus**. Procento postižených jedinců kolísá v širokém rozmezí 9-40%. Porucha se většinou projeví během prvního roku života neprospíváním, dehydratací a hypernatrémii. U části pacientů je dosažení osmotické rovnováhy problematické i při léčbě antidiuretickým hormonem. Prognosticky nepříznivá je kombinace diabetes insipidus a poruchy pocitu žízně.

V případě, že hormonální poruchy zůstávají nerozpoznány, ohrožují pacienty s SOD hypoglykémie, adrenální krize a dehydratace, které mohou narušit jejich normální vývoj, případně vedou až k náhlému úmrtí. Největší riziko představuje deficit ACTH, obzvláště v kombinaci s diabetes insipidus.

Neurologické příznaky

Psychomotorický vývoj dětí s SOD je velmi variabilní - od **těžké psychomotorické retardace**, přes **mírné vývojové opoždění** až k **normálnímu intelektu** s nadprůměrnými školními výsledky. Psychomotorická retardace růstového stupně je popisována u 50-75% pacientů. Příčina psychomotorické retardace je komplexní. Podílí se na ní nejen abnormální vývoj mozku, ale i opakované hypoglykémie a elektrolytové dysbalance jako důsledek hormonálních deficitů a svoji roli nejspíše může sehrávat i psychosociální deprivace při těžké poruše zraku.

Křeče se vyskytují u 25-30% dětí s SOD. U některých z nich souvisí s morfologickými změnami mozku, u části z nich jsou projevem hormonální poruchy - hypoglykemické křeče při deficitu růstového a ACTH a hyponatremické křeče při neadekvátní léčbě diabetes insipidus antidiuretickým hormonem.

Léčba a prognóza

SOD je vrozená vada CNS, kterou není možno léčbou odstranit, je však možno léčbou jednotlivých příznaků zkvalitnit život dítěte s SOD. Cílem péče je včasná diagnóza, podrobné zmapování všech postižení, jejich adekvátní léčba a soustavné sledování.

Vzhledem k tomu, že se jedná o komplexní poruchu postihující více tělních systémů, je nutná spolupráce více odborníků. Úkolem **oftalmologa** je určit závažnost zrakového postižení a kontrolovat optimální využití zbytků zraku.

Dětský endokrinolog je zodpovědný za diagnózu již rozvinutých hormonálních deficitů a včasný záchyt dalších rozvíjejících se endokrinopatií a jejich léčbu.

Neurologická péče je potřebná u pacientů s rozvinutým neurologickým postižením.

Faktory, které určují prognózu SOD, jsou především závažnost zrakové poruchy, spektrum a tíže hormonálních deficitů, rozsah postižení mozku a v neposlední řadě i včasnost diagnózy a kompetentní odborné sledování a léčba. Její včasné rozpoznání a soustavná péče předejde závažným komplikacím jako adrenální krizi, elektrolytovému rozvratu či narušení psychomotorického vývoje opakovanými hypoglykémiami. Umožní také optimálně využít zbytků zraku a včasné zachytit rozvoj dalších endokrinopatií.

Literatura

Barkovich AJ, Fram EK, Norman K. Septo-optic dysplasia: MR imaging. *Radiology* 1989; 171: 189-192

Brodsky MC, Glasier CM. Clinical Significance of Associated Central Nervous System Abnormalities on Magnetic Resonance Imaging. *Arch Ophthalmol* 1993; 111: 66-74

Brodsky WJ, Griebel M, Glasier CM, Caldwell D, Thomas P. Septo-optic dysplasia: the clinical insignificance of an absent septum pellucidum. *Dev Med Child Neurol* 1993; 35: 490-501

Dattani MT, Martinez-Barbera JP, Thomas PQ, Brickman JM, Gupta R, Wales JKH, Hindmarsh PC, Beddington RSP, Robinson ICAF. Molecular Genetics of Septo-Optic Dysplasia. *Horm Res* 2000; 53 (Suppl 1): 26-33

Hellstroem A, Aronsson M, Axelson C, Kyllerman M, Kopp S, Steffenburg S, Stroemland K, Westphal O, Winklund L-M, Winklund KA. Children with Septo-Optic Dysplasia - How to Improve and Sharpen the Diagnosis. *Horm Res* 2000; 53 (Suppl 1): 19-25

Hoyt WF, Kaplan SL, Grumbach MM, Glaser JS. Septo-optic dysplasia and pituitary dwarfism. *Lancet* 1970; 1: 893-894

Masera N, Grant DB, Stanhope R, Preece MA. Diabetes insipidus with impaired osmotic regulation in septo-optic dysplasia and agenesis of the corpus callosum. *Arch Dis Child* 1994; 70: 51-53

Miller SP, Shevell MI, Patenaude MD, Poulin C, O'Gorman AM. Septo-optic dysplasia plus: A spectrum of malformations of cortical development. *Neurology* 2000; 54: 1701-1703

Thomas PQ, Dattani MT, Brickman JM, McNay D, Warne G, Zacharin M, Cameron F, Hurst J, Woods K, Dunger D, Stanhope R, Forrest S, Robinson ICAF, Beddington RSP. Heterozygous *HESX1* mutations associated with isolated congenital pituitary hypoplasia and septo-optic dysplasia. *Human Molecular Genetics* 2001; 10: 39-45

Traggiai C, Stanhope R. Endocrinopathies associated with midline cerebral and cranial malformations. *J Pediatr* 2002; 140: 252-255

Willnow S, Kiess W, Butenandt O, Doerr HG, Enders A, Strasser-Vogel B, Egger J, Schwarz HP. Endocrine disorders in septo-optic dysplasia (De Morsier syndrome) - evaluation and follow up of 18 patients. *Eur J Pediatr* 1996; 155: 179-184

5.2. Článek 2

(Vosáhlo J, Krásný J, Srp A, Brunnerová R, Lebl J. Septo-optická dysplázie: morfologické, oftalmologické a endokrinní nálezy u 11 pacientů. Čes.-slov. Pediatr. 2003(58);5:287-90)

Septo-optická dysplázie: morfologické, oftalmologické a endokrinní nálezy u 11 pacientů

Vosáhlo J. ¹, Krásný J. ², Srp A. ³, Brunnerová R. ², Lebl J. ¹

¹ Klinika dětí a dorostu 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Praha
přednosta doc. MUDr. J. Lebl, CSc.

² Oftalmologická klinika 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Praha
přednosta prof. MUDr. P. Kuchynka, CSc.

³ Radiodiagnostická klinika 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Praha
přednosta doc. MUDr. J. Šprindrich, CSc.

Souhrn

Septo-optická dysplázie (SOD) je vrozená vývojová vada charakterizovaná hypoplázií optických nervů, anomáliemi centrálního nervového systému a poruchou endokrinních funkcí hypotalamu a hypofýzy. U skupiny 11 pacientů (5 chlapců, 6 dívek) s SOD jsme analyzovali morfologické, oftalmologické a endokrinní nálezy. Malformace mozku byly nalezeny u 10 z nich a zahrnovaly agenezi septum pellucidum (4), corpus callosum (3), fornixu (1), anomálie hypofýzy (9), korové malformace (4) a další ojedinělé nálezy. U 9 z 11 pacientů byly zjištěny vývojové anomálie optických nervů - hypoplasie jednostranná (6) nebo oboustranná (2) a dysplastické změny (1). Oboustrannou slepotou trpěli 2 pacienti, jednostrannou slepotou 6 pacientů. Strabismus by prokázán u 9,

nystagmus u 4 pacientů. Hormonální deficit byl zjištěn u 9 pacientů. Nejčastější byl deficit růstového hormonu (8), dále centrální hypotyreóza (7), hypokortikalismus (6), hypogonadismus (2) a diabetes insipidus (1). Včasná diagnóza a komplexní přístup k léčbě jsou základním předpokladem pro kvalitní péči o děti s SOD.

Klíčová slova

septo-optická dysplázie, De Morsierův syndrom, hypoplázie optiku, deficit růstového hormonu

Septo-optic dysplasia: morphological, ophthalmologic and endocrine findings in 11 patients

Vosáhlo Jan, Krásný Jan, Srp Antonín, Brunnerová Renata, Lebl Jan

Summary

Septo-optic dysplasia (SOD) is a developmental abnormality characterised by optic nerve hypoplasia, brain malformations and hypothalamic-pituitary deficiencies. Morphological, ophthalmologic and endocrine findings were studied in 11 children with SOD - 5 males and 6 females. Brain malformations were found in 10 children and included aplasia of septum pellucidum (4), corpus callosum (3) and fornix (1), pituitary abnormalities (9), cortical malformations (4) and some additional findings in single patients. Developmental abnormalities of optic nerve were seen in 9 children - unilateral (6) and bilateral (2) optic nerve hypoplasia and dysplastic changes (1). Blindness was present in 2 children bilaterally and in 6 children unilaterally. Nine children suffered from strabismus and 4 from

nystagmus. Endocrine symptoms were present in 9 patients. The most prevalent was growth hormone deficiency (8), followed by central hypothyroidism (7), hypocorticalism (6), hypogonadism (2) and diabetes insipidus (1). Early diagnosis and interdisciplinary approach are essential in an adequate care for children with SOD.

Key words

septo-optic dysplasia, De Morsier syndrome, optic nerve hypoplasia, growth hormone deficiency

Úvod

Septo-optická dysplázie (De Morsierův syndrom) (SOD) je **vzácná vrozená vada** charakterizovaná **hypoplázií optických nervů, malformacemi centrálního nervového systému a deficitem hormonů hypotalamo-hypofyzárního systému**. K diagnóze septo-optické dysplázie je nezbytná přítomnost **nejméně dvou ze tří uvedených znaků** (4, 17, 23). **Hypoplázie** optických nervů je jedno- nebo oboustranná a je často **provázena poruchami zraku** různého stupně (10, 14). Obvyklým nálezem u jednostranné formy hypoplázie je **strabismus** (3). Malformace CNS zahrnují především **defekty středočárových struktur** - aplázii septum pellucidum, corpus callosum nebo fornixu, hypoplázií hypofýzy, dalšími možnými nálezy jsou kortikální či cerebelární malformace (1, 15, 18, 19). Spektrum hormonálních poruch sahá **od izolovaného deficitu růstového hormonu** přes kombinované pituitární deficity **až po panhypopituitarismus** včetně diabetes insipidus (4, 11, 12, 13, 14, 16, 26, 27). Hormonální poruchy mohou během života **progredovat** (8, 23, 26). Prezentovaná práce je retrospektivní studií 11 pacientů se zaměřením na podrobný popis oftalmologických, morfologických a endokrinních nálezů.

Soubor pacientů a metody

Do studie byli začleněni pacienti s diagnózou SOD, kteří byli vyšetřeni nebo jsou sledováni v endokrinologické ordinaci Kliniky dětí a dorostu 3.LF UK a FNKV v letech 1998 až 2002. Soubor sestává z 11 dětí - 5 chlapců a 6 dívek. Věk pacientů při prvních projevech onemocnění byl 1 den až 8,9 roku, diagnóza SOD byla stanovena ve věku 4,7 až 17,0 let.

Pro stanovení diagnózy SOD byla určující přítomnost alespoň dvou ze tří příznaků SOD - hypoplázie optických nervů, malformace CNS a deficity hypofyzárních hormonů. Hypoplázie optických nervů byla diagnostikována fundoskopicky, malformace CNS na základě vyšetření mozku magnetickou rezonancí (MRI), případně počítačovou tomografií (CT), a hormonální deficity na základě vyšetření nativních hladin hormonů a dynamických endokrinních testů.

Oftalmologická vyšetření včetně hodnocení výsledků byla provedena na Oftalmologické klinice 3.LF UK a FNKV. Zobrazovací vyšetření včetně hodnocení výsledků byla provedena na Radiodiagnostické klinice 3.LF UK a FNKV, částečně byly použity výsledky zobrazovacích vyšetření zaznamenané ve starší dokumentaci. Standardní dynamické endokrinní testy (pyridostigmin-clonidinový test, inzulínový test, LHRH test) byly provedeny na Klinice dětí a dorostu 3. LF UK a FNKV. Hladiny hormonů byly rutinně vyšetřeny v Ústavu biochemie a pathobiochemie 3.LF UK a FNKV (FSH, LH, prolaktin, fT₄, TSH, kortizol), na Klinice dětí a dorostu 3.LF UK a FNKV (růstový hormon) a v Ústavu klinické biochemie a patobiochemie 2.LF UK a FN Motol (IGF-I, IGFBP-3). Částečně byly použity výsledky hormonálních vyšetření zaznamenané ve starší dokumentaci.

Výsledky

Morfologické nálezy

MRI nebo CT vyšetřením byly malformace mozku prokázány u 10 z 11 dětí. Čtyři z nich měly agenezi septum pellucidum, tři částečnou agenezi corpus callosum, jedno z dětí nemělo vyvinutý fornix. Adenohypofýza byla normálně utvářena pouze u dvou dětí, v 7 případech byla hypoplastická, ve 2 případech byl nález popsán

jako empty sella. Korové malformace byly zjištěny u 4 dětí - u 2 z nich se jednalo o schizencefalii s ektopií šedé hmoty a poruchou gyrifikace (pachygyrie, polymikrogyrie), u jednoho o izolovanou ektopii šedé hmoty a u jednoho o izolovanou pachygyrii. Dalšími nálezy byla cysta v infundibulu, cysta glandula pinealis a lipom hypotalamu.

Tab. 1. Malformace mozku u 11 dětí se septo-optickou dysplázií

Malformace mozku celkem	10/11
ageneze septum pellucidum	4/11
ageneze corpus callosum (částečná)	3/11
ageneze fornixu	1/11
hypoplastická adenohypofýza/empty sella	9/11
korové malformace	4/11

Oftalmologické nálezy

Těžké vývojové anomálie zrakových nervů byly prokázány u 9 pacientů – hypoplázie optických nervů u osmi z nich a dysplastické změny u jednoho. Oboustranná hypoplázie byla nalezena u 2 dětí a byla provázena oboustrannou slepotou. U 6 dětí byl nález hypoplastických změn disku zrakového nervu jednostranný, zraková ostrost takto postižených očí byla na úrovni praktické slepoty. Z dětí s hypoplázií optického nervu byl u tří z nich patrný double ring sign a výrazná vinutost cév. Dysplastické změny disku zrakového nervu pod obrazem kolobomu a gliomatózních změn byly přítomny na obou očích jednoho dítěte. Stupeň zrakové ostrosti u něj nebylo možno spolehlivě stanovit vzhledem k závažnému mentálnímu defektu. U 2 pacientů byl oftalmoskopický nález na discích optického nervu i v makulární krajině bez zřejmých vývojových anomálií, zraková ostrost obou očí byla 1,0 a prostorové vidění bez zjištěných poruch. Strabismus byl přítomen u 9 pacientů, u 4 pacientů byl prokázán nystagmus.

Tab. 2. Oftalmologické nálezy u 11 dětí se septo-optickou dysplázií

Fundoskopické nálezy	
vývojové anomálie optických nervů	9/11
hypoplázie optických nervů	8/11
jednostranná	6/11
oboustranná	2/11
dysplastické změny disku	1/11
double ring sign	3/11
výrazná vinutost cév	3/11
Funkční hodnocení zraku	
oboustranná slepota	2/11
jednostranná slepota (monokulus)	6/11
fyzilogická zraková ostrost oboustranná	2/11
nelze hodnotit	1/11
Nystagmus	4/11
Strabismus	9/11

Endokrinní nálezy

Deficit některého z hormonů hypofýzy (růstový hormon, TSH, ACTH, FSH/LH, ADH) byl nalezen u 9 pacientů. Izolovaný deficit jednoho hormonu hypofýzy byl prokázán u 1 pacienta, u 2 byl zjištěn deficit dvou hormonů, u 5 deficit tří hormonů a u jednoho deficit 4 hormonů hypofýzy. Nejčastějším deficitem byl deficit růstového hormonu diagnostikovaný u 8 pacientů následovaný deficitem TSH u 7, ACTH u 6 a ADH u 1 pacienta. Deficit FSH/LH byl prokázán u 2 ze 4 pacientů v pubertálním nebo postpubertálním věku. U 7 dětí v prepubertálním věku nemohla být vzhledem k prepubertálnímu věku sekrece gonadotropinů spolehlivě posouzena.

Tab. 3. Hormonální deficity u 11 dětí se septo-optickou dysplázií

Hormonální deficit	9/11
deficit růstového hormonu	8/11
centrální hypotyreóza	7/11
centrální hypokortikalismus	6/11
deficit FSH/LH	2/4
diabetes insipidus	1/11

Tab. 4. Šíře hormonální poruchy u 11 dětí se septo-optickou dysplázií

Počet hormonálních deficitů (růstový hormon, TSH, ACTH, FSH/LH, ADH)	Počet pacientů
0	2/11
1	1/11
2	2/11
3	5/11
4	1/11

Diskuse

Úplná forma SOD je charakterizována kombinací hypoplázie optických nervů, malformací CNS a deficitů hypotalamo-hypofyzárního systému, **neúplná forma** pak jeden z těchto tří znaků postrádá. Úplná forma SOD je méně častá, vyskytuje se asi ve 30 % případů (27). V naší skupině byla úplná forma SOD prokázána u 5 pacientů z 11 (45 %).

Agenezi septum pellucidum je možno prokázat u 20-60 % pacientů (26), v naší sestavě pak u 4/11 (37 %) pacientů. **Ageneze corpus callosum** se vyskytuje v úplné formě, u níž tato struktura není vůbec vytvořena, nebo ve formě neúplné, u níž je corpus callosum zúženo nebo chybí některá jeho část. Úplnou agenezi corpus callosum jsme nezaznamenali, neúplná ageneze byla nalezena u 3/11 (27 %) pacientů. **Anomálie oblasti hypofýzy** (hypoplázie, empty sella) jsou častým nálezem u SOD. V naší sestavě byly nalezeny u 9/11 (82 %) pacientů. **Kortikální malformace** zahrnují schizencefalii, dystopii šedé hmoty a poruchy gyrifikace (15, 19). Jsou často **spojeny s vývojovým opožděním a neurologickými deficity** (2, 15). Prognosticky významná je přítomnost nebo nepřítomnost schizencefalie - u pacientů se schizencefalií se častěji vyskytují oční příznaky a křeče, u pacientů bez schizencefalie spíše hypotalamo-hypofyzární poruchy (1).

Základním oftalmologickým nálezem u SOD je jedno- nebo oboustranná **hypoplázie optického nervu**. Někteří autoři považují tento příznak za nezbytný pro diagnózu SOD (26, 27). Hypoplázie optických nervů byla oftalmoskopicky

zjištěna u 8 z 11 (73 %) našich pacientů, u 2 (18 %) z nich oboustranně a u 6 (55 %) jednostranně. V některých případech nacházíme na discích i **dysplastické změny** (25), u kterých je popisována asociace s endokrinopatiemi (10). U jednoho z našich pacientů byly dysplastické změny disků - kolobom a gliomatóza zachyceny (3).

Základní diagnostickou metodou hypoplázie optických nervů je **fundoskopie** s následným hodnocením fotodokumentace (7), přesnější je **rentgenologické hodnocení** průměru optického kanálu (20). **Papila** zrkového nervu je většinou **zmenšena** na 50-33 % normálního průměru a lemována dvojitým prstencem atrofické cévnatky a pigmentového listu sítnice - obraz popisovaný jako **double-ring sign** (21). Papila zrkového nervu může být redukována na velikost pouhé cévní branky s bělavým lemem a doprovázená výraznou **vinutostí cév**, někdy je naopak jen mírně zmenšená a atrofická.

Funkční postižení zraku jsou u pacientů s SOD časté. Slepota postihuje 25-50 % dětí, závažným postižením zraku jich trpí 30-40 % (10, 14). V naší skupině byla oboustranná slepota zjištěna u 2/11 (18 %) a jednostranná u 6/11 (55 %) pacientů. **Strabismus** je častým nálezem u dětí s SOD a může být prvním příznakem, který přivede dítě k lékaři (3). U všech 9 našich pacientů s vývojovými anomáliemi (hypoplázie, dysplázie) byl strabismus zjištěn. **Nystagmus** nalézáme hlavně u pacientů s oboustranným postižením zrkového nervu (5, 6, 10). V naší sestavě byl nystagmus popsán u všech 3 dětí s oboustrannou hypoplázií optických nervů a u 1 dítěte s jednostrannou hypoplázií optického nervu.

Hormonální deficity se v různých sestavách vyskytují u 30 – 100 % pacientů, v naší skupině pak u 9/11 (82 %) dětí. Spektrum odchylek sahá od izolovaného deficitu růstového hormonu **až k deficitu všech hormonů hypofýzy včetně ADH** (4, 14, 26, 27). Pacienti s SOD jsou ohroženi **progresivní ztrátou hormonální sekrece** (8, 23, 26).

Nejčastějším hormonálním deficitem u pacientů s SOD je **deficit růstového hormonu**. Toto tvrzení se potvrdilo i v naší sestavě pacientů, kde jsme tento deficit prokázali u 8/11 (73 %) z nich. **Deficit ACTH** je další častou hormonální poruchou. V naší sestavě se centrální hypokortikalismus vyskytl u více než poloviny pacientů - u 6/11 (55 %), v četnosti byl však předstižen **centrální hypotyreózou**, která byla zjištěna u 7/11 (64 %) pacientů. **Poruchy funkce gonadotropinů** se projevují jednak opožděným nebo chybějícím nástupem

puberty, jak tomu bylo i u 2 našich pacientů, nebo naopak předčasnou a rychle postupující pubertou (6, 9). **Diabetes insipidus** je v různých sestavách pacientů nalézán u 9-40 % (14, 23, 26, 27), v naší sestavě pak u 1/11 (9 %). Porucha se většinou projeví již v prvních měsících života. Prognosticky závažná je kombinace diabetes insipidus a poruchy pocitu žízně (14, 24).

Závěr

Děti se septo-optickou dysplázií vyžadují soustavnou a dlouhodobou péči založenou na **interdisciplinární spolupráci** zahrnující dětského oftalmologa, endokrinologa a neurologa. **Včasná diagnóza** a správně vedená péče umožní maximální možnou **kompensaci zrakové poruchy** a včasným rozpoznáním a **léčením endokrinopatií** předejde rozvoji jejich závažných komplikací - adrenální krize, elektrolytového rozvratu či narušení psychomotorického vývoje opakovanými hypoglykémiami.

Problematika je řešena v rámci výzkumného záměru MSM 111200001.

Literatura

1. Barkovich, A.J., Fram, E.K., Norman, K.: Septo-optic dysplasia: MR imaging. *Radiology*, 171, 1989, s. 189 - 192
2. Brodsky, M.C., Glasier, C.M.: Clinical Significance of Associated Central Nervous System Abnormalities on Magnetic Resonance Imaging. *Arch Ophthalmol*, 111, 1993, s. 66 - 74
3. Brunnerová, R., Krásný, J., Lebl, J., Al Taji, E., Vosáhlo, J.: Variabilita septo-optické dysplázie. *Folia strabologica et neuroophthalmologica*, 5, 2002, suppl, s. 59 – 61
4. Dattani, M.T., Martinez-Barbera, J.P., Thomas, P.Q., Brickman, J.M., Gupta, R., Wales, J.K.H., Hindmarsh, P.C., Beddington, R.S.P., Robinson, I.C.A.F.:

- Molecular Genetics of Septo-Optic Dysplasia. *Horm Res*, 53, 2000, suppl 1, s. 26 - 33
5. Davis, G.C., Shock, J.P.: Septo-optic dysplasia associated with see-saw nystagmus. *Arch Ophthalmol*, 93, 1975, s. 137 - 139
 6. Freude, S., Frisch, H., Wimberger, D., Schober, E., Haeusler, G., Waldhauser, F., Aichner, F.: Septo-optic dysplasia and growth hormone deficiency: accelerated pubertal maturation during GH therapy. *Acta Paediatr*, 81, 1992, s. 641 - 645
 7. Glaser, J.S.: Topical Diagnosis: Prechiasmal Visual Pathways. In: Tasman and Jaeger: *Duane's Ophthalmology on CD-ROM*. Lippincott-Raven Publ 1998, Volume 2, Chapter 5
 8. Hanna, C.E., LaFranchi, S.H.: Evolving hypopituitarism in children with central nervous system lesions. *Pediatrics*, 72, 1983, s. 65 - 70
 9. Hanna, C.E., Mandel, S.H., LaFranchi, S.H.: Puberty in the syndrome of septo-optic dysplasia. *Am J Dis Child*, 143, 1989, s. 186 - 189
 10. Hellstroem, A., Aronsson, M., Axelson, C., Kyllerman, M., Kopp, S., Steffenburg, S., Stroemland, K., Westphal, O., Winklund, L.-M., Winkland, K.A.: Children with Septo-Optic Dysplasia - How to Improve and Sharpen the Diagnosis. *Horm Res*, 53, 2000, suppl 1, s. 19 - 25
 11. Hoyt, W.F., Kaplan, S.L., Grumbach, M.M., Glaser, J.S.: Septo-optic dysplasia and pituitary dwarfism. *Lancet*, 1, 1970, s. 893 - 894
 12. Izenberg, N., Rosenblum, M., Parks, J.S.: The endocrine spectrum of septo-optic dysplasia. *Clin Pediatr (Phila)*, 23, 1984, s. 632 - 636
 13. Kaplan, S.L., Grumbach, M.M., Hoyt, W.F.: A syndrome of hypopituitary dwarfism, hypoplasia of optic nerves, and malformation of prosencephalon: report of 6 patients. *Pediatr Res*, 4, 1970, s. 480 - 481
 14. Masera, N., Grant, D.B., Stanhope, R., Preece, M.A.: Diabetes insipidus with impaired osmotic regulation in septo-optic dysplasia and agenesis of the corpus callosum. *Arch Dis Child*, 70, 1994, s. 51 - 53
 15. Miller, S.P., Shevell, M.I., Patenaude, M.D., Poulin, C., O'Gorman, A.M.: Septo-optic dysplasia plus: A spectrum of malformations of cortical development. *Neurology*, 54, 2000, s. 1701 - 1703
 16. Morishima, A., Aranoff, G.S.: Syndrome of septo-optic-pituitary dysplasia: The clinical spectrum. *Brain Dev*, 8, 1986, s. 233 - 239

17. Nanduri, V.R., Stanhope, R.: Why is the retention of gonadotrophin secretion common in children with panhypopituitarism due to septo-optic dysplasia? *Europ J Endocrinol*, 140, 1999, s. 48 - 50
18. Nuri Seren, R.: Septo-optic dysplasia (de Morsier's syndrome) associated with total callosal absence. A new type of the anomaly. *J Neuroradiol*, 23, 1996, č. 2, s. 79 - 81
19. Nuri Seren, R.: Septo-optic dysplasia associated with cerebral cortical dysplasia (cortico-septo-optic dysplasia). *J Neuroradiol*, 23, 1996, č. 4, s. 245 - 247
20. Otradovec, J.: *Choroby očníce*. Praha, Avicenum 1986, s. 24
21. Pagon, R.A., Spaeth, G.L.: Congenital Malformation of the Eye. In: Tasman and Jaeger: *Duane's Ophthalmology on CD-ROM*. Lippincott-Raven Publ 1998, Volume 1, Chapter 40
22. Stanhope, R., Preece, M.A., Brook, C.G.D.: Hypoplastic optic nerves and pituitary dysfunction. A spectrum of anatomic and endocrine abnormalities. *Arch Dis Child*, 59, 1984, s. 111 - 114
23. Traggiai, C., Stanhope, R.: Endocrinopathies associated with midline cerebral and cranial malformations. *J Pediatr*, 140, 2002, s. 252 - 255
24. Vosáhlo, J., Kolská, M., Lebl, J.: Neobvyklý případ septo-optické dysplázie. Kazuistika. *Čes-slov Pediatr*, 56, 2001, s. 660 - 662
25. Walton, D.S., Robb, R.M.: Optic nerve hypoplasia: a report of 20 cases. *Arch Ophthalmol*, 84, s. 572 - 576
26. Willnow, S., Kiess, W., Butenandt, O., Doerr, H.G., Enders, A., Strasser-Vogel, B., Egger, J., Schwarz, H.P.: Endocrine disorders in septo-optic dysplasia (De Morsier syndrome) - evaluation and follow up of 18 patients. *Eur J Pediatr*, 155, 1996, s. 179 - 184
- Yukizane, S., Kimura, Y., Yamashita, Y., Matsuishi, T., Horikawa, H., Ando, H., Yamashita, F.: Growth hormone deficiency of hypothalamic origin in septo-optic dysplasia. *Eur J Pediatr*, 150, 1990, s. 30 - 33

5.3. Článek 3

(Riedl S, Vosáhlo J, Batellino T, Stirn-Kranjc B, Brugger PC, Prayer D, Müllner-Eidenböck A, Kapelari K, Blümel P, Waldhör T, Krásný J, Lebl J, Frisch H. Refining clinical phenotypes in septo-optic dysplasia based on MRI findings Eur J Pediatr. DOI 10.1007/s00431-007-0666-x)

Refining clinical phenotypes in septo-optic dysplasia based on MRI findings

Stefan Riedl ¹, Jan Vosahlo ², Tadej Battelino ³, Branka Stirn-Kranjc ⁴, Peter C. Brugger ⁵, Daniela Prayer ⁶, Andrea Müllner-Eidenböck ⁷, Klaus Kapelari ⁸, Peter Blümel ⁹, Thomas Waldhör ¹⁰, Jan Krasny ¹¹, Jan Lebl ¹², Herwig Frisch ¹

¹ Department of Paediatrics, Medical University of Vienna, Vienna, Austria

² Department of Paediatrics, 3rd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

³ Children's Hospital, University Medical Center Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

⁴ Department of Ophthalmology, University Medical Center Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

⁵ Center of Anatomy and Cell Biology, Medical University of Vienna, Vienna, Austria

⁶ Department of Radiology, Medical University of Vienna, Vienna, Austria

⁷ Department of Ophthalmology, Medical University of Vienna, Vienna, Austria

⁸ Department of Pediatrics, Medical University of Innsbruck, Innsbruck, Austria

⁹ Gottfried von Preyersch's Kinderspital, Vienna, Austria

¹⁰ Department of Epidemiology, Center of Public Health, Medical University of Vienna, Vienna, Austria

¹¹ Department of Ophthalmology, 3rd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

¹² Department of Pediatrics, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

Abstract

Septo-optic dysplasia (SOD) is a heterogeneous brain midline anomaly associated with ophthalmological, endocrinological, and/or neurodevelopmental symptoms. The clinical phenotype correlates with abnormal brain magnetic resonance

imaging (MRI) findings. However, variations of the septum pellucidum (SP) appearance and their clinical impact have not been studied in depth. Sixty eight patients with optic nerve hypoplasia (ONH) were investigated for the presence of associated SP anomalies and correlations between clinical findings and their MRI abnormalities established. Thirty patients had either complete (n=22) or partial (n=8) absence of the SP. Pituitary hormone deficiencies were present in 64% or 25% of the cases, respectively. Neurological symptoms did not occur in patients with SP remnants or unilateral ONH. Hippocampus abnormalities (43%) that have not been described before in SOD and falx abnormalities (17%) correlated significantly with neurological symptoms and developmental delay ($p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively). Maternal age at birth was low (21.2 years) and drug abuse during pregnancy was reported in 27% of the patients. Twelve patients with pituitary anomaly and ONH but normal SP showed similar clinical and MRI features, and were classified as SOD-like. The remaining 6 patients were not assigned to SOD. We conclude that unilateral ONH and SP remnants are associated with a milder SOD phenotype. Hippocampus abnormalities and falx abnormalities seem to constitute important features of severe clinical disease, irrespective of SP appearance. Our anamnestic data support the hypothesis of vascular disruption during embryogenesis.

Key words

Septo-optic dysplasia, Brain midline malformation, Optic nerve hypoplasia, Pituitary deficiency

Abbreviations

bONH	Bilateral optic nerve hypoplasia
CC	Corpus callosum
MPHD	Multiple pituitary hormone deficiency
ONH	Optic nerve hypoplasia

SOD	Septo-optic dysplasia
SP	Septum pellucidum
uONH	Unilateral optic nerve hypoplasia

Introduction

The spectrum of clinical features in septo-optic dysplasia (SOD; OMIM #182230) is highly heterogeneous. The clinical picture was first described in 1956 [11]. Later on, Hoyt et al. [13] reported the association of pituitary deficiency with SOD. Numerous reports have been published to date, each with different focuses, depending on the speciality of the reporting centres, i.e., if looked at from an ophthalmological, endocrinological, or radiological perspective [2, 4, 6, 8, 14, 18, 24, 26]. Contributing to the great heterogeneity of SOD, it has been common practice to establish the diagnosis of SOD if at least two out of three criteria (optic nerve hypoplasia [ONH; OMIM #165550], absence of the septum pellucidum [SP], pituitary hormone deficiency) were present, thus, accepting the absence of one of the initially described abnormalities. Moreover, most reports did not differentiate between complete absence and partial absence of the SP.

Basically, the term SOD might be regarded as anachronistic in view of the fact that a number of associated structural brain abnormalities described in SOD can be found in patients with ONH and pituitary deficiency, but normal SP, who do not qualify for the diagnosis by definition [6]. Hence, if SP appearance is used as a criterion for the diagnosis or exclusion of SOD, patients with identical symptoms but different SP appearance on magnetic resonance imaging (MRI) will end up with different diagnoses. On the other hand, the term SOD” is well established and draws the clinician’s attention to possibly associated life-threatening endocrine disorders. From a conservative and practical point of view, it would, thus, be rational to consider an SOD phenotype in brain midline anomalies associated with ONH and morphological abnormalities of the pituitary gland, even if the SP is normal.

We analysed 68 patients with ONH, 30 of who had an SP abnormality and were classified as SOD. We aimed to refine MRI features suggestive of SOD with particular consideration of the SP appearance, especially with regard to pituitary

insufficiency and neurological symptoms or developmental delay. To explore their relevance, clinical and MRI symptoms established in SOD were also analysed in 12 patients with ONH and pituitary anomaly, who had a normal SP.

Patients and methods

Patients with ONH diagnosed at fundoscopy were recruited at one Czech, one Slovenian, and three Austrian centres. All patients underwent MRI, ophthalmological, endocrinological, and neurological assessment. Investigations were performed as part of their routine clinical management and consent was obtained from the parents or caregivers.

All patients had baseline endocrinological investigations. Routine laboratory methods and commercial assays were used. Dynamic tests were performed if baseline results were abnormal or if endocrine deficiency was clinically suspected. Growth hormone (GH) deficiency was diagnosed if stimulated GH levels (arginine test, insulin tolerance test) were below 10 µg/L. Thyroxin levels were assessed for the diagnosis of thyrotrophic deficiency. Spontaneous, adrenocorticotrophic hormone (ACTH; 1 µg), or hypoglycaemia-stimulated cortisol levels above 550 nmol/L were considered to be normal. Gonadotrophic function was examined by a luteinizing hormone-releasing hormone test if indicated. Patients suspicious of arginine vasopressin (AVP) deficiency according to clinical symptoms and morning urine osmolality levels were admitted to hospital for fluid balance assessment and water deprivation testing. Multiple pituitary hormone deficiency (MPHD) was diagnosed if two or more pituitary hormones were deficient. Endocrine evaluation was repeated at 3- to 6-monthly intervals to detect any gradual decrease of pituitary function.

Visual acuity, field changes, and motility disturbances were evaluated with age-related tests at each centre (data not shown). Indirect fundoscopy was performed to detect morphological abnormalities of the optic nerve head and retinal vessels. ONH was classified as either unilateral (uONH) or bilateral (bONH). Visual development was graded as normal (visual acuity >0.5–1.0), delayed (visual acuity >0.1–0.5), or severely impaired/absent (visual acuity <0.1).

The presence of neurological symptoms was evaluated according to patient history, clinical status, and electroencephalogram (EEG) findings. School type and school performance were taken into account to evaluate developmental disorders. MRI was performed using 1.5-Tesla super-conduction systems. T1- and T2-weighted series were performed in transversal, sagittal, and axial planes, with a slice thickness of 1–3 mm before and after gadolinium enhancement. All MRI images were evaluated centrally by the same investigators and compared to 25 age-matched subjects referred to MRI investigations for various reasons other than ONH/SOD. The SP was classified as normal, absent, or partially absent if remnants were visible. The size of the anterior pituitary was compared to standard values [1]. Pituitary abnormalities were classified as minor when the posterior pituitary and the infundibulum were present, and as severe when one or both were absent, according to the probability of associated pituitary deficiency [9, 25]. Hypoplasia of the corpus callosum (CC) was diagnosed if its area on sagittal slices was significantly reduced. The hippocampi were assessed with regard to their size, shape, spatial orientation, and laterality of abnormalities, and were considered as abnormal if they were hypoplastic and/or vertically orientated on coronal images. Falx abnormalities were recorded if the rostral falx was hypoplastic or absent. Cortical malformations comprised the occurrence of focal cortical dysplasia, subependymal heterotopia, polymicrogyria, pachygyria, incomplete opercularization, or schizencephalic clefts.

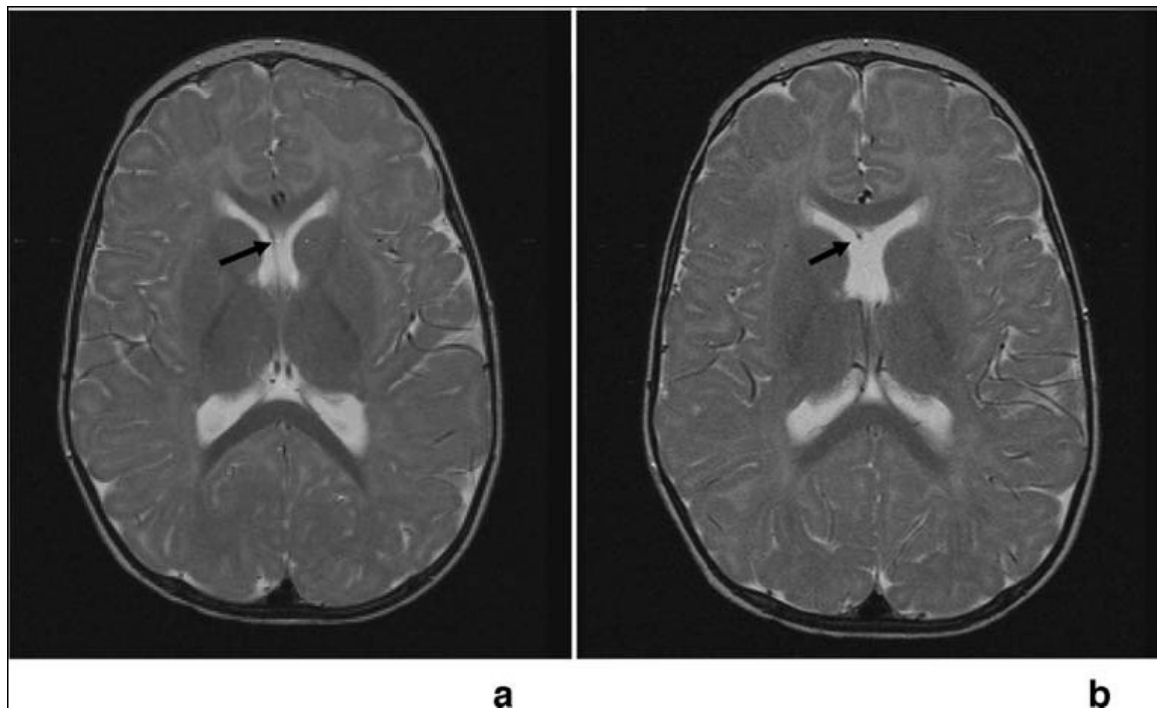
Clinical and MRI findings in SOD patients (n=30) were stratified by SP appearance and compared with the SODlike group (n=12). Associations between MRI abnormalities and clinical symptoms were studied in the complete group (SOD and SOD-like, n=42) by means of Spearman's correlation. Comparisons of frequencies and means were done using Fisher's exact test and Wilcoxon's exact test, respectively. All analyses were performed using SAS software, version 9 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 2002–2003).

Results

Patient selection

Out of 68 patients with ONH, 30 had an SP abnormality consistent with SOD. Twenty-two of them had complete SP absence and eight had partial SP absence/SP remnants (Fig. 1). Another two patients with abnormal SP had lobar holoprosencephaly. Among the 36 patients with ONH and without SP abnormality, 12 had a pituitary anomaly visible on MRI and were classified as SOD-like. Diagnoses established in the remaining 24 patients who had normal pituitary anatomy and no endocrine disorders comprised isolated ONH (n=15), CC agenesis (n=4), sequelae from maternal diabetes/diabetic embryopathy (n=2), schizencephaly (n=2), or focal cortical dysplasia (n=1). Preliminary results on a subgroup of SOD patients have already been published [22].

Fig. 1 Axial T2-weighted images showing septum remnants (a) and the presence of a septal vein only on one side (b)



Pregnancy and birth history of patients with SOD

The median maternal age at delivery (21 years; range 16–34.5) was significantly lower (–5.3 years; $p < 0.001$) compared with data from the National Birth Registry

(Statistic Austria). Maternal age was equally distributed between the different SP appearance groups. Medications (tranquilizers) and/or drug abuse (cigarettes, alcohol/binge drinking) during early pregnancy was reported in 8/30 mothers (27%), with no significant association with their age ($p=0.76$). Gestational age (GA; 40.0 ± 0 weeks), birth weight (0.03 ± 0.8 SDS), and birth length (0.11 ± 0.8 SDS) were normal. Perinatal complications (hypoglycemia, sepsis, asphyxia) occurred in eight children (27%).

Clinical assessment of SOD patients

Table 1 shows the results of the clinical assessment of the patients in this study.

Table 1 Patient characteristics and clinical findings in relation to septum pellucidum (SP) appearance

n (%)	Absent SP 22 (100)	SP remnants 8 (100)	All SOD patients 30 (100)	SOD-like patients 12 (100)
Median age [range] at diagnosis (years)	1.25 [0–13.17]	3.33 [0.2–12.75]	1.56 [0–13.17]	5.19 [0–8.88]
Mean length \pm SD at diagnosis	-1.44 \pm 1.32	-0.53 \pm 1.30	-1.19 \pm 1.4	-2.19 \pm 1.61
GH deficiency	13 (59)	2 (25)	15 (50)	9 (75)
TSH deficiency	9 (41)	2 (25)	11 (37)	8 (67)
ACTH deficiency	7 (32)	0 (0)	7 (23)	7 (58)
AVP deficiency	5 (23)	0 (0)	5 (17)	2 (17)
Isolated hormone deficiency	3 (14)	0 (0)	3 (10)	1 (8)
Multiple hormone deficiency	10 (45)	2 (25)	12 (40)	9 (75)
ONH unilateral	3 (14)	3 (38)	6 (20)	2 (17)
ONH bilateral	19 (86)	5 (63)	24 (80)	10 (83)
Neurological symptoms	8 (36)	0 (0)	8 (27)	4 (33)
Developmental delay	7 (32)	1 (13)	8 (27)	6 (50)

Auxological and endocrinological findings

The median age at diagnosis was 1.56 years, showing a considerable difference between SP subgroups. Sex was equally distributed. The target height was 0.02 ± 0.63 SDS. Patients with SP remnants were, on average, taller than those with completely absent SP (-0.53 vs. -1.44 SDS), with a lower incidence of pituitary deficiency (25 vs. 59%). ACTH deficiency and diabetes insipidus was not found in patients with SP remnants. The progressive loss of pituitary function was observed in 9/15 hormone-deficient patients (60%). No pubertal disorder occurred. The mean follow-up time was 3.0 years.

Ophthalmological findings

Twenty-two of thirty patients (22/30, 73%) initially presented with nystagmus and/or squint and/or symptoms of delayed or absent visual development. The majority (80%) had bONH, and three of the six cases with uONH were found among the eight patients with SP remnants. Among the children with bONH, 6/34 had normal, 13/34 delayed, and 14/34 severely impaired or absent visual development. The degree of visual impairment correlated significantly with the presence of severe pituitary anomaly ($p < 0.02$).

Neurological findings

Neurological symptoms, comprising abnormal muscle tone, focal signs, or seizures, were recorded in 8/30 patients (27%), but did not occur in patients with SP remnants. They were significantly more frequent in patients with MPHD ($p < 0.02$). Six of the eight patients with developmental delay also had neurological symptoms. There was no association with the degree of visual impairment ($p = 0.89$).

MRI assessment

The MRI results are shown in Table 2.

Table 2 Septum appearance and magnetic resonance imaging (MRI) findings

n (%)	Absent SP 22 (100)	SP remnants 8 (100)	All SOD patients 30 (100)	SOD-like patients 12 (100)
Anterior pituitary hypotrophic or absent	16 (73)	3 (38)	19 (63)	10 (83)
Posterior pituitary ectopic or absent	12 (55)	2 (25)	14 (47)	8 (67)
Pituitary stalk thin or absent	13 (59)	2 (25)	15 (50)	11 (92)
CC hypoplasia	10 (45)	3 (38)	13 (43)	5 (42)
Hippocampus anomaly	12 (55)	1 (13)	13 (43)	4 (33)
Falx abnormality	5 (23)	0 (0)	5 (17)	3 (25)
Cortical malformations	10 (45)	2 (25)	12 (40)	4 (33)

Four patients with a minor pituitary anomaly and two patients with a severe pituitary anomaly did not show endocrine deficiency during the observation period, whereas one patient without pituitary anomaly visible on MRI had isolated GH

deficiency. Overall, a pituitary anomaly was less frequently seen in patients with SP remnants ($p=0.053$). Severe pituitary anomalies were significantly correlated with pituitary deficiency ($p<0.001$), whereas minor pituitary anomalies were not ($p=0.68$). CC hypoplasia (43%) was equally distributed between the SP groups. Cortical malformations (Fig. 2) were more common in the absent SP group. Hippocampus anomalies of size and/or spatial orientation (43%; Fig. 3) were unilateral in five and bilateral in eight cases. Falx abnormalities (17%; Fig. 4) were not observed in patients with SP remnants. Severe pituitary anomaly, as well as neurological symptoms and developmental delay, were found significantly more often in patients with hippocampus and falx abnormalities (Table 3).

Fig. 2 Coronal T1-weighted images showing cortical malformations: polymicrogyria (a); schizencephalic cleft (b)

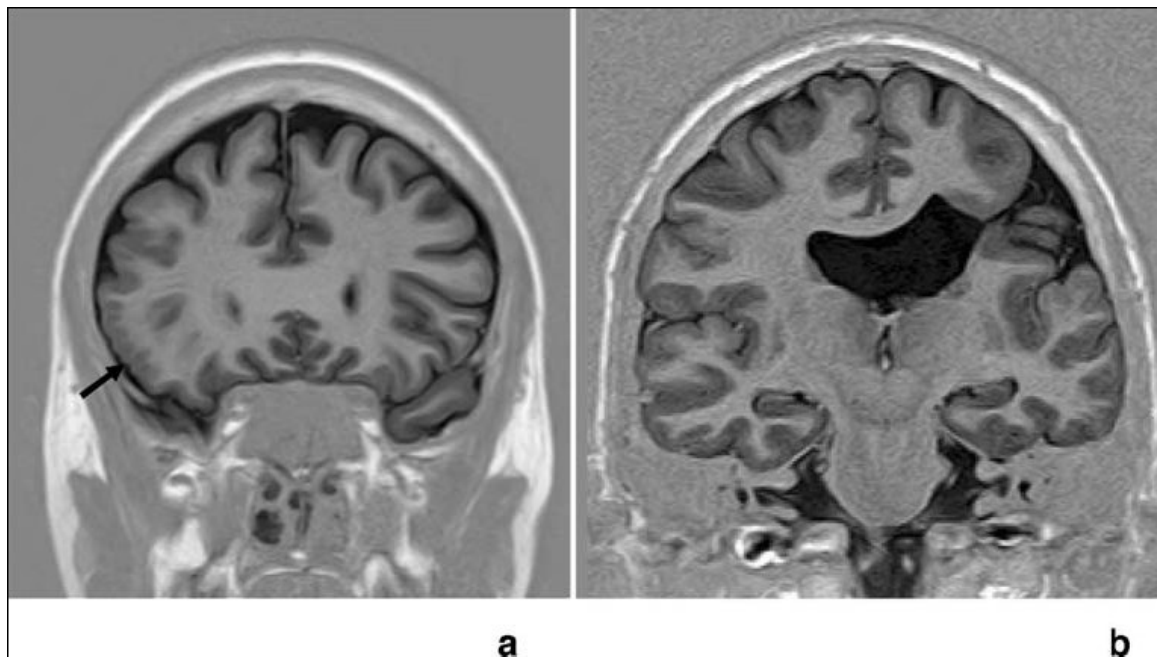


Fig. 3 Coronal T2-weighted image: missing septum pellucidum, hypoplastic corpus callosum, and sagittalized hippocampus (arrow)

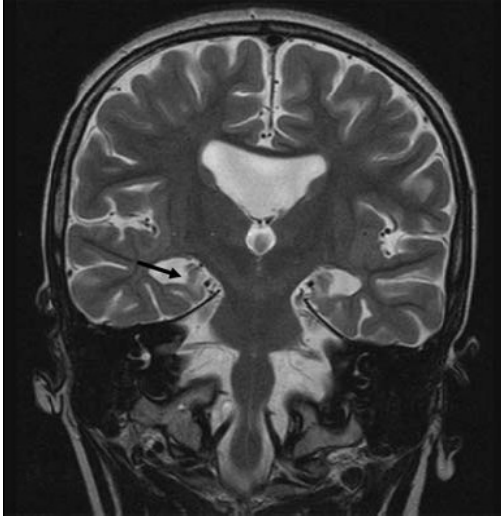


Fig. 4 Median sagittal T2-weighted image showing absent rostral falx (the arrows indicate its ending)



Table 3 Association of clinical symptoms and MRI features in septo-optic dysplasia (SOD) and SOD-like patients with hippocampus and falx abnormality. In five patients, both abnormalities were present

n	Hippocampus anomaly 17	Falx abnormality 8	All SOD and SOD-like patients 42
Clinical symptoms			
Pituitary deficiency	12	6	25
ONH bilateral	16*	7	34
Neurological symptoms	8**	7**	12
Developmental delay	9*	6**	14
Associated MRI features			
Severe pituitary pathology	12*	6*	18
CC hypoplasia	8	3	18
Cortical malformations	9	4	16

*p<0.05; **p<0.01

SOD-like phenotype

Clinical and MRI features of all patients with ONH plus pituitary anomaly and normal SP in comparison with SOD are presented in Tables 1 and 2. Striking similarities could be found, including the occurrence of hippocampus and falx abnormalities (Table 3). Maternal age at diagnosis (21.33 years; range 17.9–31)

and pregnancy drug abuse (42%) were similar to the SOD patients, whereas the age at diagnosis was higher in SOD-like patients, possibly due to the evolving character of pituitary deficiency, as endocrine deficiency was overrepresented in this group.

bONH vs. uONH

Clinical symptoms and MRI features of bONH and uONH in patients with SOD as well as an SOD-like phenotype are presented in Table 4. In general, the phenotype associated with uONH was much less severe and was inversely correlated with pituitary deficiency ($p < 0.05$). None of the uONH patients had neurological symptoms or developmental delay.

Table 4 Occurrence of clinical symptoms and MRI features in relation to optic nerve hypoplasia (ONH; unilateral or bilateral) in all patients (SOD and SOD-like)

n	ONH bilateral 34	ONH unilateral 8
Clinical symptoms		
Isolated pituitary hormone deficiency	3	1
Multiple pituitary hormone deficiency	20	1
Neurological symptoms	12	0
Developmental delay	14	0
Associated MRI features		
Minor pituitary pathology	10	4
Severe pituitary pathology	18	0
CC hypoplasia	18	0
Hippocampus anomaly	16	1
Falx abnormality	7	1

Discussion

The diagnosis and classification of SOD is still a matter of discussion.

Heterogeneity arises because of the variability of clinical symptoms, morphological abnormalities, and focus of observers. In the present multicentre study, based on central MRI evaluation, 30 patients with ONH and abnormal SP were investigated and the associations of MRI findings with endocrinological, ophthalmological, and

neurodevelopmental symptoms were analysed. The investigation protocol was also evaluated in 12 patients with ONH and pituitary anomaly, but normal SP. Endocrine deficits were found in 50% of all SOD patients, and the majority (80%) had MPHD. Similar to previous reports [5, 28], we observed a gradual loss of pituitary function in a considerable proportion of the hormone-deficient patients (60%). This high figure might be due to the low age at diagnosis and the long follow-up duration. Among patients with absent SP, a relatively high percentage had ACTH deficiency (32%) and AVP deficiency (23%). Both disorders potentially increase the mortality risk during intercurrent illness in affected SOD patients, caused by thermoregulatory dysfunction, hypocortisolism, and electrolyte disorders [7].

In general, severe pituitary anomaly on MRI, comprising posterior pituitary and/or stalk anomalies, was significantly correlated with pituitary deficiency, and all patients with MPHD had morphological abnormalities, whereas only one patient with isolated GH deficiency had normal pituitary appearance. However, specificity was low, and six patients with pituitary pathology did not present with endocrine symptoms during the observation period. It remains to be seen if they will develop pituitary deficiency in the future.

Patients with SP remnants (27%) had a milder phenotype that differed from patients with completely absent SP. Accordingly, those children were older at diagnosis. Additionally, uONH was infrequently associated with hormonal deficits and was never seen in combination with neurodevelopmental symptoms, which is reflected by the fewer abnormal structures on brain MRI. In accordance with Barkovich et al. [4], our results suggest that a quantitative effect according to the time or impact of an event in early pregnancy could be responsible for the severity of the phenotype of SOD.

Twelve of the patients with ONH and pituitary anomaly on MRI had a normal SP and would not qualify for the diagnosis of SOD in a literal sense. However, when comparing clinical symptoms and MRI features of these patients to SOD, consistent similarities could be found. Their lower height at diagnosis might be explained by the fact that endocrine deficiencies, including GH deficiency, were overrepresented in this group. We, therefore, suggest to regard the clinical phenotype as consisting of ONH and pituitary anomaly, but without SP abnormality

(SOD-like) as a variant within the spectrum of SOD, requiring identical diagnostic and management strategies.

To our knowledge, hippocampus malformation has not been described in SOD so far. We observed hippocampus malformations in 43% and 33% of our SOD and SOD-like patients, respectively. Regarding embryology, hippocampus development takes place between the 10th and the 18th–20th week of gestation. During that time, marked expansion of the neocortex and unequal growth of the various hippocampal structures leads to its gradual infolding into the temporal horn, associated with a change from vertical to horizontal orientation [15, 20]. Abnormalities of hippocampus size and spatial orientation have been observed in various congenital brain malformations, such as CC agenesis, lissencephaly, and holoprosencephaly, and are associated with heterotopia, polymicrogyria, and schizencephaly [3, 23]. In our patients with hippocampus malformations, cortical malformations (53%) and CC abnormalities (47%) were also frequent. From a clinical point of view, the occurrence of hippocampus malformation was strongly linked with severe pituitary anomaly and neurological symptoms, as well as developmental delay, to which recurrent infancy hypoglycaemia might have contributed. Similar statistically significant correlations were found in association with falx abnormalities that were detected in 17% of SOD and 25% of SOD-like patients (Table 3). Therefore, the hippocampal region and the falx cerebri should be regarded as possibly affected brain structures in SOD associated with profound midline abnormalities and a more severe clinical phenotype.

Regarding pathogenesis, a genetic defect of the pituitary transcription factor HESX1 (OMIM *601802) leading to an SOD phenotype has been described [10, 27]. Alternatively, a vascular disruption sequence during embryonic brain development has been discussed [17]. However, HESX1 mutations seem to be rare [21], whereas association with young maternal age at birth and drug abuse during pregnancy support a vascular pathogenesis [12, 16, 19]. We also observed young maternal age, which was equally distributed between SP subgroups and uONH or bONH. Additionally, the percentage of mothers reporting drug abuse before the knowledge of pregnancy, mostly cigarette smoking and binge drinking, was considerably high (27%). These data would rather support the hypothesis of vascular disruption as the primary event leading to SOD, and suggest that SOD could be regarded as a clinical continuum, depending on the embryonic stage at

the time of the causal event, extent of vascular disruption, and area of vascular supply. Similarly, an intact SP could be in line with a septum-sparing vascular event during early embryonic life.

In conclusion, the clinical phenotype of SOD varies between different groups of SP appearance. We found a difference between SOD patients with complete absence of SP (severe phenotype) and SP remnants (mild phenotype). Moreover, patients with uONH were significantly less severely affected. Patients with ONH and pituitary anomaly, but with a normal SP (SOD-like) showed similar clinical and MRI features as that established in SOD patients. Hippocampus anomalies that were recorded as a significant SOD feature for the first time and falx abnormalities were associated with neurological symptoms and a more severe phenotype.

Sponsors/acknowledgments

The study was a collaboration project of the Middle European Society for Paediatric Endocrinology (MESPE) and is supported, in part, by a grant from the Serono Company. The authors' work was independent of the sponsors.

References

1. Argyropoulou M, Perignon F, Brunelle F, Brauner R, Rappaport R (1991) Height of normal pituitary gland as a function of age evaluated by magnetic resonance imaging in children. *Pediatr Radiol* 21:247–249
2. Arslanian SA, Rothfus WE, Foley TP Jr, Becker DJ (1984) Hormonal, metabolic, and neuroradiologic abnormalities associated with septo-optic dysplasia. *Acta Endocrinol (Copenh)* 107:282–288
3. Baker LL, Barkovich AJ (1992) The large temporal horn: MR analysis in developmental brain anomalies versus hydrocephalus. *Am J Neuroradiol* 13:115–122
4. Barkovich AJ, Fram EK, Norman D (1989) Septo-optic dysplasia: MR imaging. *Radiology* 171:189–192
5. Birkebaek NH, Patel L, Wright NB, Grigg JR, Sinha S, Hall CM, Price DA, Lloyd IC, Clayton PE (2003) Endocrine status in patients with optic nerve hypoplasia: relationship to midline central nervous system abnormalities and appearance of

- the hypothalamic-pituitary axis on magnetic resonance imaging. *J Clin Endocrinol Metab* 88:5281–5286
6. Brodsky MC, Glasier CM (1993) Optic nerve hypoplasia. Clinical significance of associated central nervous system abnormalities on magnetic resonance imaging. *Arch Ophthalmol* 111:66–74
 7. Brodsky MC, Conte FA, Taylor D, Hoyt CS, Mrak RE (1997) Sudden death in septo-optic dysplasia. Report of 5 cases. *Arch Ophthalmol* 115:66–70
 8. Cameron FJ, Khadilkar VV, Stanhope R (1999) Pituitary dysfunction, morbidity and mortality with congenital midline malformation of the cerebrum. *Eur J Pediatr* 158:97–102
 9. Chen S, Léger J, Garel C, Hassan M, Czernichow P (1999) Growth hormone deficiency with ectopic neurohypophysis: anatomical variations and relationship between the visibility of the pituitary stalk asserted by magnetic resonance imaging and anterior pituitary function. *J Clin Endocrinol Metab* 84:2408–2413
 10. Dattani MT, Martinez-Barbera JP, Thomas PQ, Brickman JM, Gupta R, Mårtensson IL, Toresson H, Fox M, Wales JKH, Hindmarsh PC, Krauss S, Beddington RSP, Robinson ICAF (1998) Mutations in the homeobox gene HESX1/Hesx1 associated Eur J Pediatr with septo-optic dysplasia in human and mouse. *Nat Genet* 19:125–133
 11. de Morsier G (1956) Etudes sur les dystrophies cranioencephaliques. III. Agénésie du septum lucidum pellucidum avec malformation du tractus optique: la dysplasie septo-optique. *Schweiz Arch Neurol Psychiatr* 77:267–292
 12. Dominguez R, Aguirre Vila-Coro A, Slopis JM, Bohan TP (1991) Brain and ocular abnormalities in infants with in utero exposure to cocaine and other street drugs. *Am J Dis Child* 145:688–695
 13. Hoyt WF, Kaplan SL, Grumbach MM, Glaser JS (1970) Septooptic dysplasia and pituitary dwarfism. *Lancet* 1:893–894
 14. Izenberg N, Rosenblum M, Parks JS (1984) The endocrine spectrum of septo-optic dysplasia. *Clin Pediatr (Phila)* 23:632–636
 15. Kier EL, Kim JH, Fulbright RK, Bronen RA (1997) Embryology of the human fetal hippocampus: MR imaging, anatomy, and histology. *Am J Neuroradiol* 18:525–532
 16. Lubinsky MS (1997) Association of prenatal vascular disruptions with decreased maternal age. *Am J Med Genet* 69:237–239

17. Lubinsky MS (1997) Hypothesis: septo-optic dysplasia is a vascular disruption sequence. *Am J Med Genet* 69:235–236
18. Margalith D, Jan JE, McCormick AQ, Tze WJ, Lapointe J (1984) Clinical spectrum of congenital optic nerve hypoplasia: review of 51 patients. *Dev Med Child Neurol* 26:311–322
19. Murray PG, Paterson WF, Donaldson MD (2005) Maternal age in patients with septo-optic dysplasia. *J Pediatr Endocrinol Metab* 18:471–476
20. Prayer D, Kasprian G, Krampfl E, Ulm B, Witzani L, Prayer L, Brugger PC (2006) MRI of normal fetal brain development. *Eur J Radiol* 57:199–216
21. Rainbow LA, Rees SA, Shaikh MG, Shaw NJ, Cole T, Barrett TG, Kirk JM (2005) Mutation analysis of POUF-1, PROP-1 and HESX-1 show low frequency of mutations in children with sporadic forms of combined pituitary hormone deficiency and septo-optic dysplasia. *Clin Endocrinol (Oxf)* 62:163–168
22. Riedl SW, Mullner-Eidenböck A, Prayer D, Bernert G, Frisch H (2002) Auxological, ophthalmological, neurological and MRI findings in 25 Austrian patients with septo-optic dysplasia (SOD). Preliminary data. *Horm Res* 58(Suppl 3):16–19
23. Sato N, Hatakeyama S, Shimizu N, Hikima A, Aoki J, Endo K (2001) MR evaluation of the hippocampus in patients with congenital malformations of the brain. *Am J Neuroradiol* 22:389–393
24. Siatkowski RM, Sanchez JC, Andrade R, Alvarez A (1997) The clinical, neuroradiographic, and endocrinologic profile of patients with bilateral optic nerve hypoplasia. *Ophthalmology* 104:493–496
25. Sorkin JA, Davis PC, Meacham LR, Parks JS, Drack AV, Lambert SR (1996) Optic nerve hypoplasia: absence of posterior pituitary bright signal on magnetic resonance imaging correlates with diabetes insipidus. *Am J Ophthalmol* 122:717–723
26. Stanhope R, Preece MA, Brook CG (1984) Hypoplastic optic nerves and pituitary dysfunction. A spectrum of anatomical and endocrine abnormalities. *Arch Dis Child* 59:111–114
27. Thomas PQ, Dattani MT, Brickman JM, McNay D, Warne G, Zacharin M, Cameron F, Hurst J, Woods K, Dunger D, Stanhope R, Forrest S, Robinson ICAF, Beddington RSP (2001) Heterozygous HESX1 mutations associated

with isolated congenital pituitary hypoplasia and septo-optic dysplasia. *Hum Mol Genet* 10:39–45

28. Traggiai C, Stanhope R (2002) Endocrinopathies associated with midline cerebral and cranial malformations. *J Pediatr* 140:252–255

6. Geneticky podmíněné formy GHD

6.1. Článek 4

(Lebl J, Vosahlo J, Pfaeffle RW, Stobbe H, Cerna J, Novotna D, Zapletalova J, Kalvachova B, Hana V, Weiss V, Blum WF. Auxological and endocrine phenotype in a population-based cohort of patients with PROP1 gene defects. Eur J Endocrinol 2005;153:389-96)

Auxological and endocrine phenotype in a population-based cohort of patients with *PROP1* gene defects

Short title: Growth in patients with *PROP1* gene defects

Jan Lebl¹, Jan Vosáhlo¹, Roland W. Pfaeffle², Heike Stobbe², Jana Černá³, Dana Novotná⁴, Jiřina Zapletalová⁵, Božena Kalvachová⁶, Václav Hána⁷, Vladimír Weiss⁷ and Werner F. Blum⁸

¹Department of Paediatrics, 3rd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

²University Hospital for Children and Adolescents, University of Leipzig, Leipzig, Germany

³Departments of Paediatrics, University Hospital Ostrava, Ostrava, Czech Republic

⁴2nd department of Paediatrics, University Hospital Brno, Brno, Czech Republic

⁵Department of Paediatrics, Faculty of Medicine, Palacky University, Olomouc, Czech Republic

⁶Institute of Endocrinology, Prague, Czech Republic

⁷3rd Department of Internal Medicine, 1st Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

⁸Eli Lilly and Company, Bad Homburg, Germany

Abstract

Objective. Multiple pituitary hormone deficiency (MPHD) may result from defects of transcription factors that govern early pituitary development. We aimed to establish the prevalence of *HESX1*, *PROP1*, and *POU1F1* gene defects in a population-based cohort of patients with MPHD and to analyse the phenotype of affected individuals.

Design and methods. Genomic analysis was carried out on 74 children and adults with MPHD from the Czech Republic (including 4 sibling pairs). Phenotypic data were collected from medical records and referring physicians.

Results. One patient carried a heterozygous mutation of *POU1F1* (71C>T), and 18 patients (including 3 sibling pairs) a *PROP1* mutation (genotypes 150delA/301delGA /9/, 301delGA/301delGA /8/, or 301delGA/349T>A /1/). A detailed longitudinal phenotypic analysis was performed for patients with *PROP1* mutations (N=17). The mean (\pm SD) birth length SDS of these patients ($+0.12\pm 0.76$) was lower than expected based on their mean (\pm SD) birth weight SDS ($+0.63\pm 1.27$; $p=0.01$). Parental heights were normal. The patients' mean (\pm SD) height SDS declined to -1.5 ± 0.9 , -3.6 ± 1.3 and -4.1 ± 1.2 at 1.5 years, 3 years, and 5 years of age, respectively. GH therapy, initiated at 6.8 ± 3.2 years of age (mean dose: 0.022 mg/kg/day), led to substantial growth acceleration in all patients. Mean adult height (N=7) was normal when adjusted for mid-parental height. ACTH deficiency developed in 2 of 7 young adult patients.

Conclusions. *PROP1* defects are a prevalent cause of MPHD. We suggest that testing for *PROP1* mutations in patients with MPHD might become standard practice in order to predict risk of additional pituitary hormone deficiencies.

Introduction

Pituitary development is governed by activation of a cascade of transcription factors that orchestrate both pituitary morphogenesis and differentiation of all 5 cell lineages of the anterior pituitary – corticotrophs, gonadotrophs, thyrotrophs, somatotrophs, and lactotrophs. Of those pituitary transcription factors identified so

far, defects of *HESX1* (1, 2), *LHX3* (3), *LHX4* (4), *PROP1* (5, 6), and *POU1F1* (Pit-1) (7, 8) have been found to lead to the phenotype of multiple pituitary hormone deficiency (MPHD) in humans.

The specific phenotype of *POU1F1* defects is characterised by a combined deficiency of growth hormone (GH), thyrotropin (TSH), and prolactin (PRL) (9-10). In contrast, endocrine phenotypes of *HESX1*, *LHX3*, *LHX4*, and *PROP1* defects (2-4, 11-14) tend to overlap and have been reported to include failure of up to all 5 cell lineages of the anterior pituitary. To make the understanding of phenotypes even more complex, the influences of these transcription factors on pituitary function seem to be dynamic and to develop throughout the human life-span (15-17). Therefore, detailed endocrine investigation alone is insufficient for identifying specific genetic defects. Also, additional clinical phenotypic manifestations of defective transcriptional regulation, such as midline defects or abnormal pituitary size (1, 3, 4), may be only somewhat helpful in identifying these defects. Thus, genetic studies of cohorts of patients with MPHD are extremely valuable for establishing the prevalence of gene defects in distinct populations, as well as in increasing understanding of how the genotype influences the endocrine and clinical phenotype.

We are reporting on a study of genetic causes of MPHD in a population-based cohort of affected patients from the Czech Republic. The structured system of paediatric and paediatric endocrine care within the country provided a unique opportunity to study a substantial proportion of potentially affected individuals and to summarise retrospectively relevant phenotypic data on a longitudinal basis. Patients were analysed with regard to mutations in the *HESX1*, *PROP1*, and *POU1F1* genes.

Subjects and methods

Recruitment of patients

The use of GH as a therapeutic agent is restricted to 12 paediatric centres and 4 centres for adult patients in the Czech Republic. Responsible physicians from all

centres countrywide were asked to collaborate in collecting DNA samples and phenotypic data of their patients with idiopathic MPHD.

Patients were included in the study cohort if they were diagnosed as GH-deficient (diagnosis confirmed by peak GH levels below 20 mIU/L in 2 provocative tests) in combination with at least 1 additional pituitary hormone deficiency. Patients with a known postnatal cause of acquired hypopituitarism, such as pituitary tumour, cranial irradiation, or trauma, were excluded. Five paediatric centres and one centre for adults reported patients fulfilling these criteria and participated actively in the patients' recruitment. Some patients were recruited through Lilly's GeNeSIS post-marketing program. DNA samples from all patients were analysed centrally (University Hospital for Children and Adolescents, Leipzig, Germany).

Collection of data

In all patients with a confirmed *PROP1* gene defect, phenotypic characteristics were evaluated on a longitudinal basis using data recorded by the attending physician on a standardised data collection form. The following data were collected:

- (a) measured or reported parental heights;
- (b) perinatal history: week of gestation, type of delivery, birth length/weight, known hypoglycaemic episodes, prolonged neonatal jaundice, maldescent testes;
- (c) height/weight data as recorded by the general paediatrician at regular visits at the ages of 1 year, 1.5 years, 3 years, and 5 years, up to the start of GH administration;
- (d) age at start of any hormonal substitution and locally measured hormonal levels before the start of relevant therapy;
- (e) height and Greulich-Pyle bone age (18) before the start of relevant hormone therapy;
- (f) GH dose and height velocity at the start of GH treatment and at years 1, 2, and 3 thereafter; and
- (g) adult height, if already available.

Expression of auxological data

Data on birth length, birth weight, and postnatal growth are expressed as standard deviation scores (SDS) of population standards derived from the Fifth Nation-Wide

Survey of Czech Children and Adolescents in 1991 (19). Parental heights are expressed as SDS of the height of individuals aged 18 to 18.99 years from the same reference data.

Genetic analyses

Genomic DNA was extracted from peripheral blood by a simple salting out procedure. Fragments containing exons of *HESX1* (3 fragments), *PROP1* (3 fragments), and *POU1F1* (6 fragments) genes were amplified by polymerase chain reaction (PCR) on a Mastercycler (Eppendorf) or Mastercycler gradient (Eppendorf) using specific primers (Table 1). PCR Master Mix (Promega) was used for amplification of fragment 3 of *PROP1*; 50 μ L of reaction solution contained approximately 200 ng of genomic DNA, 12.5 pmol of each primer, and 25 μ L of PCR Master Mix (Promega). TaqPCR Core Kit (Quiagen) was used for amplification of all other fragments; 50 μ L of reaction solution contained approximately 200 ng of genomic DNA, 12.5 pmol of each primer, 1.25 U of Taq DNA polymerase, 10 nM of each deoxynucleotide, and 5 μ L of PCR buffer. For all primers, the PCR consisted of 5 minutes at 95°C followed by 33 cycles of 1 minute at 95 °C, 1 minute at annealing temperature, and 30 seconds at 72°C.

PCR products were mixed with wild type PCR products and denatured by heat; then all 888 DNA fragments (12 fragments from each of 74 patients) were screened for the presence of a mutation on the Wave®Nucleic Acid Fragment Analysis System (Transgenomic™) using a dHPLC mutation detection™ protocol. The validity of the dHPLC method had been previously evaluated with 5 different *POU1F1* gene mutations and 6 different *PROP1* gene mutations and had been encountered in the laboratory.

After purification of PCR products using the QIAquick® PCR Purification Kit (Qiagen), samples that were positive for a mutation upon screening (33 /7%/ fragments of *POU1F1* gene; 87 /39%/ fragments of *PROP1* gene and 13 /6%/ fragments of *HESX1* gene) were sequenced on an ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) using the BigDye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) and according to the cycle-sequencing protocol provided by the manufacturer. The same primers as for PCR were used for sequencing of *HESX1* fragments, *PROP1* fragment 2, and *POU1F1* fragments

1, 2, and 4. The universal primers TGT AAA ACG ACG GCC AGT (sense) and CAG GAA ACA GCT ATG ACC (antisense) were used to amplify the remaining fragments.

The results of DNA sequencing were evaluated with GeneTool or GeneTool 2.0 (BioTools Incorporated) software.

Table 1. Primers used in polymerase chain reaction amplification of fragments containing exons of HESX1, PROP1, and POU1F1

Gene	Fragment	Forward	Reverse
HESX1	1 (exon 1)	CTA TAA GGT GAA CTG CAG GA	AAG AAT TGA AAC AAT TAA GCT GT
	2 (exon 2)	ACC ATC TAA GAC AGG GCT TAT	ACT TGG TGT CAA TTA AAG CCT
	3 (exons 3+4)	GAG ACA TAC TGA ATA TCA ACA	GAA GAT AAT TTC ACT GTT TAG
PROP1	1 (exon 1)	TGT AAA ACG ACG GCC AGT CAG GTG TGG AGA GGA GCT	CAG GAA ACA GCT ATG ACC ATG CTT TCA GCC TCA CAC
	2 (exon 2)	AGG CAC ATG TGG TCC AGC ACC	GAT AGC ACC AAA GAA ATC TGC
	3 (exon 3)	TGT AAA ACG ACG GCC AGT TCA CCC CTA CAG CCA TGC CC	CAG GAA ACA GCT ATG ACC TCA GAC TGG TGT GAC AAA GC
POU1F1	1 (exon 1)	GAA TCG GCC CTT TGA GAC AG	CCC GGT CAT ATG TAA ACT GT
	2 (exon 2)	GAT CCA AAC TCC TAA ATG TTT G	GTG TCC CCA AAT TCA ATA ACA
	3 (exon 3)	TGT AAA ACG ACG GCC AGT GAG AAT GAC AAA TGG ACT	CAG GAA ACA GCT ATG ACC AGA TTT GCA AAC CAA GTT
	4 (exon 4)	GAT ACA CAG ATT TGT GTG AC	TCC TAC TTA TTG AAG CCA TTA
	5 (exon 5)	TGT AAA ACG ACG GCC AGT GTC TAC TTT GTG TTT GTA	CAG GAA ACA GCT ATG ACC ACC AGT TTT GTC CTC TAG TAA C
	6 (exon 6)	TGT AAA ACG ACG GCC AGT ATT CAA CCT ACC TTA ATT	CAG GAA ACA GCT ATG ACC ATG AAA CGG GAG AAA AAG GCT A

Statistical analyses

Data are given as mean \pm SD if not stated otherwise. Paired t-tests were used for comparison of paired values, while one-sample t-tests were used for comparison of sets of SDS data against the zero-value.

Ethics

Patients/parents gave their written informed consent to participate in the study. The Ethics Committee of the 3rd Faculty of Medicine, Charles University, Prague approved study conduct.

Results

Mutation screening

Of the 74 patients (including 4 sibling pairs; 44 males and 30 females) with MPHD, 1 male patient had a heterozygous *POU1F1* gene defect, and 18 patients (including 3 pairs of siblings) had a homozygous or double heterozygous *PROP1* gene defect without any indication of consanguinity. No patient had a *HESX1* gene defect (Table 2). Thus, the overall prevalence of mutation carriers in the 3 screened genes associated with MPHD was 26% of the study cohort. Of the 140 independent chromosomes investigated, a mutation was detected in 31 chromosomes (22%; 30 independent *PROP1* mutations and one *POU1F1* mutation). All of the identified mutations have been reported previously (6, 20, 21).

Table 2. Genetic findings in patients with MPHD (N=74)

Gene	Genotype	Number of affected patients	Prevalence among the study cohort
<i>PROP1</i>	150delA / 301delGA	9	24.3%
	301delGA / 301delGA	8	
	301delGA / 349T>A	1	
<i>POU1F1</i>	71C>T / wild type	1	1.4%
<i>HESX1</i>	Not applicable	0	0.0%

Phenotype in patients with a PROP1 gene defect

The identification of a large group of patients with a *PROP1* gene defect (N=18; 10 males and 8 females) enabled us to perform a detailed analysis of phenotypic characteristics from birth up to adolescence/adulthood in these patients.

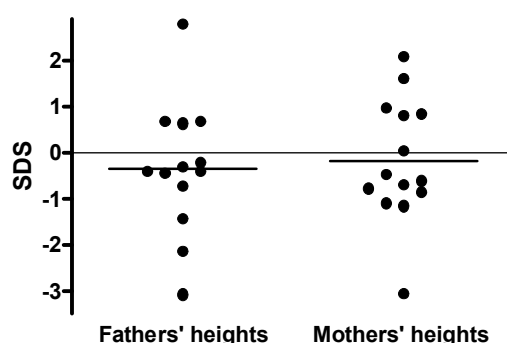
Of those patients with a *PROP1* gene defect, a 74-year-old female with an adult height of 120 cm had received no hormonal substitution before her eighth decade of life. At 72 years of age, she was diagnosed to be GH-, TSH-, and PRL-deficient and hypogonadotropic; however, she had normal morning cortisol levels (729 nmol/L; 26.4 µg/dL). Due to the lack of relevant data from her childhood, she was excluded from additional phenotypic analyses.

The remaining 17 patients were aged 6 to 36 years (median age: 17 years). All were diagnosed with MPHD during childhood, and all started hormonal replacement therapy (including GH treatment) before having achieved adult height. Phenotypic data for these 17 patients are presented in the following sections.

Parental heights

The mean (\pm SD) heights of both the fathers (-0.35 ± 1.44 SDS) and mothers (-0.18 ± 1.33 SDS) of these patients were not significantly different from normal local standards (19) (Figure 1).

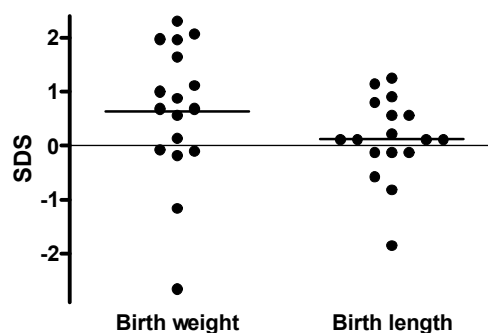
Figure 1. Height SDS of the parents of patients with PROP1 gene defects. The horizontal bars represent the means.



Birth and postnatal period

The median gestational age of these patients was 40 weeks (range: 37 to 42 weeks). Delivery was normal in 12 patients. Two patients showed breech presentation, while 3 patients required Caesarean section. Although there are no corresponding data from the general population for this period, it appears that there was no significant association between *PROP1* gene defects and abnormal delivery. The median birth weight of these patients was 3650 g (range: 2150 to 4350 g). When adjusted for sex, the mean (\pm SD) birth weight was $+0.63\pm 1.27$ SDS ($p=0.06$ versus 0) (19). The median birth length of these patients was 50 cm (range: 45 to 54 cm). When adjusted for sex, the mean (\pm SD) birth length was $+0.12\pm 0.76$ SDS ($p=0.52$ versus 0) (19). However, the mean birth length SDS was lower than expected based on the mean birth weight SDS of these patients ($p=0.01$), suggesting a modest prenatal restriction of longitudinal growth (Figure 2). No episodes of neonatal hypoglycaemia were noted in any of the patients. One patient experienced prolonged neonatal jaundice and 2 of 10 males had undescended testes at birth requiring surgery later in childhood.

Figure 2. Birth weight SDS and birth length SDS of patients with *PROP1* gene defects. The observed data did not differ from general population (birth weight: $p=0.06$; birth length: $p=0.52$). However, the patients' mean (\pm SD) birth length ($+0.12\pm 0.76$ SDS) was lower than expected based on their mean (\pm SD) birth weight ($+0.63\pm 1.27$ SDS) ($p=0.01$). The horizontal bars represent the means, with p -values for the difference from 0.



Natural history of growth

Mean \pm SD height SDS of these patients decreased from $+0.12 \pm 0.76$ SDS (birth length) to -1.4 ± 1.2 SDS at 1 year of age, -1.5 ± 0.9 SDS at 1.5 years of age, -3.6 ± 1.3 SDS at 3 years of age, and -4.1 ± 1.2 SDS at 5 years of age (Figures 3 and 4). These data indicate that the major deficit in statural growth developed between the ages of 1.5 and 3 years.

Figure 3. Natural history of growth (expressed as height SDS) of patients with PROP1 gene defects, measured from birth to the start of GH therapy. The height SDS values shown at the bottom of the figure are given as mean \pm SD. The horizontal bars represent the means.

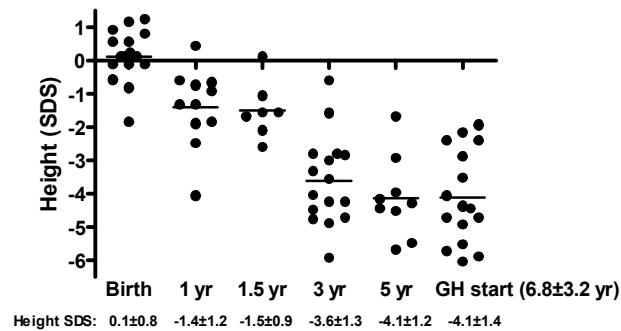


Figure 4. A girl with a PROP1 gene defect (150delA/301delGA) at her (a) first; (b) second; (c) fourth; (d) fifth; (e) sixth; and (f) seventh birthdays. She started on GH and thyroxin therapy at 6.7 years of age. Photograph (g) shows her current status at 14 years of age. Typical facial appearance of growth hormone deficiency (frontal bossing, flat nasal bridge) may be noticed during early childhood; however, the typical phenotype disappeared later while under GH therapy. The patient and her parents gave written permission to publish her photographs without masks, as those would hide relevant signs of hypopituitarism.



Clinical and endocrine characteristics at diagnosis and at start of replacement therapy

Age, height, bone age, and hormonal status at diagnosis of pituitary impairment are summarised in Table 3. The data indicate that hormonal findings at diagnosis are variable. The age at start of administration of GH, thyroxin, and hydrocortisone in individual patients is shown in Figure 5. Treatment decisions were based on routine endocrine investigations (growth velocity, GH stimulation tests and IGF-I for GH replacement, T4/FT4 and TSH for thyroxin and low basal morning cortisol for hydrocortisone substitution). Sex steroids were administered to all pubertal and adult patients.

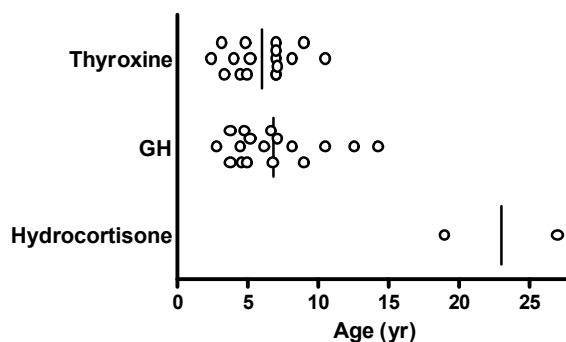
Pituitary imaging was available in 17 patients. Pituitary was enlarged in three, normal-sized in four and hypoplastic in 11 patients.

Table 3. Age, height, bone age, and hormonal status in patients with PROP1 gene defects at diagnosis of pituitary impairment (N=17).

Variable	Mean (SD)	Median (range)	Normal range
Age (yr)	6.8 (3.2)	6.2 (2.8 to 14.3)	-
Height SDS	-4.12 (1.40)	-4.43 (-6.05 to -1.95)	-2 to +2
BA/CA	0.49 (0.18)	0.43 (0.26 to 0.95)	-
IGF-I (µg/L)	27 (18)	17 (10 to 47)	Age- and sex-dependent*
TSH (mIU/L)	1.31 (0.69)	1.25 (0.15 to 2.80)	0.25-5.0
ft4 (pmol/L)	6.6 (4.9)	4.0 (2.1 to 13.3)	10-26
PRL (µg/L)	5.1 (5.1)	2.6 (0.6 to 12.3)	2.6-23
Cortisol (nmol/L)	342 (246)	240 (140 to 910)	140-700

* All IGF-I values were considered by the investigators to be clearly below the normal range. Abbreviations: BA/CA – Bone age/chronological age ratio; IGF-I – insulin-like growth factor-I; TSH – thyrotropin; ft4 – free thyroxin; PRL – prolactin. Bone age was estimated according to the method of Greulich and -Pyle (19). Cortisol (µg/dL) = (nmol/L) x 0.036; ft4 (ng/dL) = (pmol/L) x 0.078

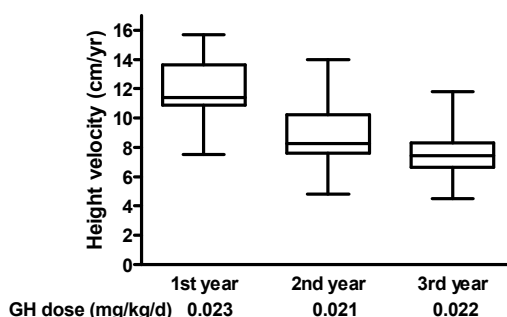
Figure 5. Age at the start of administration of GH, thyroxin, and hydrocortisone for patients with PROP1 gene defects. The vertical bars represent the means.



Growth rates during GH therapy

GH was administered at mean (\pm SD) doses of 0.023 ± 0.007 mg/kg/day during the first year, 0.021 ± 0.007 mg/kg/day during the second year, and 0.022 ± 0.007 mg/kg/day during the third year of treatment. The corresponding growth rates are shown in Figure 6.

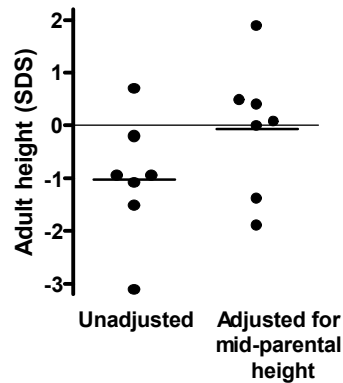
Figure 6. Growth rates during the first, second, and third years of GH administration in patients with PROP1 defects. The Whisker boxes indicate the minimum value, the 25th percentile, the median, the 75th percentile, and the maximum value.



Adult height

To date, 7 of 17 patients have achieved their adult height. The mean (\pm SD) unadjusted adult height of these patients was slightly below normal (-1.0 ± 1.2 SDS; $p=0.06$) (19), but was normal when adjusted for mid-parental height (-0.1 ± 1.3 SDS). Adult heights adjusted for mid-parental height ranged from low-normal (in 2 older subjects who received sub-optimal GH therapy during childhood) to high-normal (for 1 female with small parents and delayed induction of puberty) (Figure 7).

Figure 7. Unadjusted adult height SDS and adult height SDS adjusted for mid-parental height in the 7 patients with *PROP1* gene defects who have attained adult height. The horizontal bars represent the means.



Discussion

Within the study population of 74 patients with MPHD, we identified 19 mutation carriers (26% of the study cohort). Mutations included a single-allelic *POU1F1* gene mutation and 18 *PROP1* gene mutations (homozygous or double heterozygous).

In the case of mutation 71C>T in the *POU1F1* gene, leucine replaces proline at position 24 (P24L). This substitution is known to affect the transactivation domain of the protein. The mutant protein exerts normal DNA binding but is expected to act as a dominant inhibitor of *POU1F1* action (20).

Among 18 *PROP1* mutation carriers, we identified 3 different mutations – 301delGA, 150delA, and 349T>A. Each mutation results in a distinct alteration of the gene's protein product. Both the microdeletions 150 delA and 301delGA cause a frameshift that leads to premature termination of translation, and to the formation of a truncated, non-functional protein (6, 21). The 349T>A mutation represents a one-amino acid change within the DNA-binding domain of the gene's protein product that leads to a significant reduction in protein-DNA binding (6).

We found that 301delGA was the most prevalent *PROP1* gene mutation within this study population, representing 72% of all identified mutations. This finding is consistent with previous observations (22, 23). As 301delGA and 150delA mutations combined represented 97% of all *PROP1* gene derangements, initial screening for these 2 mutations in candidates for genetic analysis seems reasonable.

The genetic portion of our study shows that *PROP1* gene defects are a frequent cause of MPHD among affected individuals in the Czech Republic. Our data, taken from a large, geographically and ethnically defined population of patients with *PROP1* gene defects, allowed extension of previous phenotypic analyses and brought novel insight into the impact of *PROP1* defects on prenatal and postnatal growth.

The mean heights of these patients' parents were normal; only a few of them were tested for *PROP1* gene mutations and were found to be heterozygotes (data not shown). Assuming that a substantial number of the non-tested parents were also heterozygous for *PROP1* gene mutations, the finding of normal height is suggesting that *PROP1* haploinsufficiency does not exert any effect on statural growth. These data are in agreement with previous observations (23).

In spite of the fact that these patients' mean birth weights and birth lengths were within the normal range (19), their mean birth length was lower than expected based on their mean birth weight. Discrepancy between birth length and birth weight seems to be obvious in children with deficient antenatal GH secretion and/or action, as shown by Savage (24) in Laron syndrome and by Ranke (25) in a combined cohort of children with Laron syndrome or GH gene deletion (Table 4). Our findings suggest that also *PROP1* defects influence the prenatal growth phase, although their impact is minor. Due to the progressive pituitary failure in these patients, GH secretion might have been partly preserved during the intrauterine development.

Table 4. Data on birth length and birth weight in children with severe prenatal defect of growth hormone secretion or action (Laron syndrome, growth hormone gene deletion) and in patients with *PROP1* gene defect (data given as median). In all patients' cohorts, the birth length is consistently decreased compared to birth weight.

	Birth length (SDS)	Birth weight (SDS)	Difference (birth length SDS – birth weight SDS)
Laron syndrome (25)	-1.59	-0.72	-0.87
Laron syndrome or <i>GH1</i> gene deletion (26)	-1.38	-0.56	-0.82
<i>PROP1</i> gene defect (current study)	+0.10	+0.67	-0.57

Patients with *PROP1* defects did not appear to have an increased prevalence of birth via breech delivery. Neonatal hypoglycaemia was not a prevalent symptom in patients with *PROP1* gene defects. Patients with neonatal hypoglycaemia of pituitary origin may have a more profound deficit of GH and/or adrenocorticotrophic hormone (ACTH) during the neonatal period than that observed in patients with *PROP1* mutations. Also, prolonged neonatal jaundice and maldescent testes were quite rare among patients with *PROP1* defects, suggesting that severe MPHD is not present at birth or shortly thereafter. We showed that growth retardation started to develop within the first year of life, leading on average to a height deficit of about 1.5 SDS by the first birthday. The most prominent loss of height (an additional -2.1 height SDS) occurred between the ages of 1.5 and 3 years, during the early phase of the childhood component of growth. In those patients not diagnosed and treated in time, growth retardation progressed, leading to a mean height SDS of -4.1 at 5 years of age. The question of when GH deficiency manifests in patients with *PROP1* gene defects is a matter of controversy (17, 26, 27). This longitudinal study indicates that growth retardation starts earlier than previously suggested, calling for initiation of GH therapy at young age.

At diagnosis, bone age was severely retarded (mean bone age/chronological age ratio=0.49), probably due to combined GH and TSH deficiencies in these patients. Data on GH secretion were not summarised, as patients were studied over several decades, using different stimulation tests and GH assays. Nevertheless, available IGF-I levels indicate severe GH deficiency at diagnosis. In most patients, central

hypothyroidism was detected at the first endocrine evaluation, and replacement of both GH and thyroxin was commenced at a similar age. Patients' PRL levels were low or low-normal, while their cortisol levels were within the normal range at initial testing. Only 2 of 7 adult patients required cortisol substitution in early adulthood. Therefore, the prevalence, age at onset, and clinical significance of late-onset ACTH deficiency in patients with *PROP1* gene defects remains a matter of controversy (17, 23, 26, 27). From our data and published data, it may be concluded that late-onset ACTH deficiency may develop during the third or fourth decade of life in some affected individuals. However, careful and systematic follow-up of adrenal function may lead to an earlier diagnosis.

In conclusion, we have shown a high prevalence of *PROP1* gene defects among patients with MPHD in a central-European population of Caucasian origin. Thus, genetic testing may elucidate the aetiology of MPHD in a substantial proportion of affected individuals. With regard to clinical experience and to published data, such a testing may help to predict and to recognise early some of the additional medical problems:

- (1) TSH deficiency in patients with normal TSH-T4 axis at diagnosis of growth hormone deficiency
- (2) Gonadotropin deficiency in children expected to enter puberty
- (3) A life-long risk of developing ACTH deficiency (23)
- (4) Abnormal pituitary morphology (28).

Therefore we suggest that testing for *PROP1* mutations in patients with MPHD might become standard practice.

Acknowledgements

We are grateful to the physicians and their staff for their support in collection of data for this study. We would like to thank the patients who took part in this study. The study was supported by Eli Lilly and Company through Lilly's GeNeSIS postmarketing research program and in part by the research project MSM No. 0021620814.

References

1. Dattani MT, Martinez-Barbera JP, Thomas PQ, Brickman JM, Gupta R, Martensson IL, Toresson H, Fox M, Wales JKH, Hindmarsh PC, Krauss S, Beddington RSP & Robinson ICAF. Mutations in the homeobox gene *HESX1/HESX1* associated with septo-optic dysplasia in human and mouse. *Nature Genetics* 1998 19 125-133.
2. Thomas PQ, Dattani MT, Brickman JM, McNay D, Warne G, Zacharin M, Cameron F, Hurst J, Woods K, Dunger D, Stanhope R, Forrest S, Robinson ICAF & Beddington RSP. Heterozygous *HESX1* mutations associated with isolated congenital pituitary hypoplasia and septo-optic dysplasia. *Human Molecular Genetics* 2001 10 39-45.
3. Netchine I, Sobrier ML, Krude H, Schnabel D, Maghnie M, Marcos E, Duriez B, Cacheux V, von Moers A, Goossens M, Gruters A & Amselem S. Mutations in *LHX3* result in a new syndrome revealed by combined pituitary hormone deficiency. *Nature Genetics* 2000 25 182-186.
4. Machinis K, Pantel J, Netchine I, Leger J, Camand OJA, Sobrier ML, Dastot-Le Moal F, Duquesnoy P, Abitbol M, Czernichow P & Amselem S. Syndromic short stature in patients with a germline mutation in the LIM homeobox *LHX4*. *American Journal of Human Genetics* 2001 69 961-968.
5. Duquesnoy P, Roy A, Dastot F, Ghali I, Teinturier C, Netchine I, Cacheux V, Hafez M, Salah N, Chaussain JL, Goossens M, Bougneres P & Amselem S. Human Prop-1: cloning, mapping, genomic structure: mutations in familial combined pituitary hormone deficiency. *FEBS Letters* 1998 437 216-220.
6. Wu W, Cogan JD, Pfaeffle RW, Dasen JS, Frisch H, O'Connell SM, Flynn SE, Brown MR, Mullis PE, Parks JS, Phillips JA & Rosenfeld MG. Mutations in *PROP1* cause familial combined pituitary hormone deficiency. *Nature Genetics* 1998 18 147-149.
7. Bodner M, Castrillo JL, Theill LE, Deerinck T, Ellisman M & Karin M. The pituitary-specific transcription factor GHF-1 is a homeobox-containing protein. *Cell* 1988 55 505-518.

8. Ohta K, Nobukuni Y, Mitsubuchi H, Ohta T, Tohma T, Jinno Y, Endo F & Matsuda I. Characterization of the gene encoding human pituitary-specific transcription factor, Pit-1. *Gene* 1992 122 387-388.
9. Tatsumi K, Miyai K, Notomi T, Kaibe K, Amino A, Mizuno Y & Kohno H. Cretinism with combined hormone deficiency caused by a mutation in the PIT1 gene. *Nature Genetics* 1992 1 56-58.
10. Pfaeffle RW, DiMattia GE, Parks JS, Brown MR, Wit JM, Jansen M, Van der Nat H, Van den Brande JL, Rosenfeld MG & Ingraham HA. Mutation of the POU-specific domain of Pit-1 and hypopituitarism without pituitary hypoplasia. *Science* 1992 257 1118-1121.
11. Rosenbloom AL, Almonte AS, Brown MR, Fisher DA, Baumbach L & Parks JS. Clinical and biochemical phenotype of familial anterior hypopituitarism from mutation of the *PROP1* gene. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999 84 50-57.
12. Fofanova O, Takamura N, Kinoshita E, Parks JS, Brown MR, Peterkova VA, Evgrafov OV, Goncharov NP, Bulatov AA, Dedov II & Yamashita S. Compound heterozygous deletion of the *PROP-1* gene in children with combined pituitary hormone deficiency. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1998 83 2601-2604.
13. Agarwal G, Bhatia V, Cook S & Thomas PQ. Adrenocorticotropin deficiency in combined pituitary hormone deficiency patients homozygous for a novel *PROP1* deletion. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2000 85 4556-4561.
14. Tajima T, Hattorri T, Nakajima T, Okuhara K, Sato K, Abe S, Nakae J & Fujieda K. Sporadic heterozygous frameshift mutation of *HESX1* causing pituitary and optic nerve hypoplasia and combined pituitary hormone deficiency in a Japanese patient. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003 88 45-50.
15. Fluck C, Deladoey J, Rutishauser K, Eble A, Marti U, Wu W & Mullis PE. Phenotypic variability in familial combined pituitary hormone deficiency caused by a *PROP1* gene mutation resulting in the substitution of Arg to Cys at codon

- 120 (R120C). *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1998 83 3727-3734.
16. Carvalho LR, Woods KS, Mendonca BB, Marcal N, Zamparini AL, Stifani S, Brickman JM, Arnhold IJP & Dattani MT. A homozygous mutation in *HESX1* is associated with evolving hypopituitarism due to impaired repressor-corepressor interaction. *Journal of Clinical Investigation* 2003 112 1192-1201.
17. Lazar L, Gat-Yablonski G, Kornreich L, Pertzalan A & Phillip M. PROP-1 gene mutation (R120C) causing combined pituitary hormone deficiencies with variable clinical course in eight siblings of one Jewish Moroccan family. *Hormone Research* 2003 60 227-231.
18. Greulich WW & Pyle SI. Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist. Stanford: Stanford University Press, 1959.
19. Bláha P, Lhotská L, Vignerová J & Bošková R. 5th Nation-wide survey of children and adolescents in 1991 (Czech Republic) – selected anthropometric characteristics. *Cesko-Slovenska Pediatrie* 1993 48 621-630.
20. Ohta K, Nobukuni Y, Mitsubuchi H, Fujimoto S, Matsuo N, Inagaki H, Endo F & Matsuda I. Mutations in the PIT-1 gene in children with combined pituitary hormone deficiency. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1992 189 851-855.
21. Riepe FG, Partsch CJ, Blankenstein O, Monig H, Pfaeffle RW & Sippell WG. Longitudinal imaging reveals pituitary enlargement preceding hypoplasia in two brothers with combined pituitary hormone deficiency attributable to *PROP1* mutation. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2001 86 4353-4357.
22. Cogan JD, Wu W, Phillips JA, Arnhold IJP, Agapito A, Fofanova OV, Osorio MGF, Bircan I, Moreno A & Mendonca BB. The *PROP1* 2-base pair deletion is a common cause of combined pituitary hormone deficiency. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1998 83 3346-3349.
23. Böttner A, Keller E, Kratzsch J, Stobbe H, Weigel JFW, Keller A, Hirsch W, Kiess W, Blum WF & Pfaeffle RW. *PROP1* mutations cause progressive deterioration of anterior pituitary function including secondary adrenal

- insufficiency: a longitudinal analysis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004 89 5256-5265.
24. Savage MO, Blum WF, Ranke MB, Postelvinay MC, Cotterill AM, Hall K, Chatelain PG, Preece MA, Rosenfeld RG. Clinical features and endocrine status in patients with growth hormone insensitivity (Laron syndrome). *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1993 77 1465-1471.
25. Ranke MB, Savage MO, Chatelain PG, Preece MA, Rosenfeld RG, Blum WF, Wilton P. Insulin-like growth factor I improves height in growth hormone insensitivity: Two years' results. *Hormone Research* 1995 44 253-264.
26. Pavel ME, Hensen J, Pfaeffle R, Hahn EG & Dörr HG. Long-term follow-up of childhood-onset hypopituitarism in patients with the PROP-1 gene mutation. *Hormone Research* 2003 60 168-173.
27. Crone J, Pfaeffle R, Stobbe H, Prayer D, Gomez I & Frisch H. Familial combined pituitary hormone deficiency caused by PROP-1 gene mutation. *Hormone Research* 2002 57 120-126.
28. Voutetakis A, Argyropoulou M, Sertedaki A, Livadas S, Xekouki P, Maniati-Christidi M, Bossis I, Thalassinou N, Patronas N, Dacou-Voutetakis C. Pituitary magnetic resonance imaging in 15 patients with *PROP1* gene mutations: Pituitary enlargement may originate from the intermediate lobe. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004 89 2200-2206.

6.2. Článek 5

(Vosáhlo J, Srp A, Pfaeffle RW, Stobbe H, Novotná D, Zapletalová J, Černá J, Kalvachová B, Weiss V, Hána V, Lebl J. Morfologie hypofýzy u pacientů s kombinovaným deficitem pituitárních hormonů na podkladě mutace v PROP1 genu. Čes.-slov. Pediat. 2005(60);6:338-44)

Morfologie hypofýzy u pacientů s kombinovaným deficitem pituitárních hormonů na podkladě mutace v PROP1 genu

Pituitary morphology in patients with combined pituitary hormone deficiency due to *PROP1* gene mutations

Věnováno doc. Kopeckému, zakladateli péče o děti s deficitem růstového hormonu v českých zemích, k jeho 85. narozeninám.

Vosáhlo J.¹, Srp A.², Pfaeffle R. W.³, Stobbe H.³, Novotná D.⁴, Zapletalová J.⁵, Černá J.⁶, Kalvachová B.⁷, Weiss V.⁸, Hána V.⁸, Lebl J.¹

¹ Klinika dětí a dorostu UK-3.LF a FNKV, Praha
přednosta Prof. MUDr. J. Lebl, CSc.

² Radiodiagnostická klinika UK-3.LF a FNKV, Praha
přednosta Doc. MUDr. M. Köcher, Ph.D.

³ Universitätsklinik und Poliklinik für Kinder und Jugendliche, Leipzig, SRN
přednosta Prof. Dr. Med. W. Kiess

⁴ II. dětská klinika MU a FN, Brno
přednosta Prof. MUDr. Z. Doležal, CSc.

⁵ Dětská klinika LF UP a FN, Olomouc
přednosta Prof. MUDr. Vladimír Mihál, CSc.

⁶ Klinika dětského lékařství, Fakultní nemocnice s poliklinikou, Ostrava
přednosta MUDr. Jaroslav Slaný, CSc.

⁷ Endokrinologický ústav, Praha
ředitel Doc. MUDr. V. Hainer, CSc.

⁸ III. interní klinika UK-1.LF a VFN, Praha
přednosta prof. MUDr. Š. Svačina, DrSc.

Souhrn

Mutace v genu *PROP1* způsobují kombinovaný deficit pituitárních hormonů s postižením sekrece růstového hormonu, TSH, prolaktinu, FSH/LH a ACTH.

Typická je také abnormální morfologie hypofýzy. Nálezy zahrnují na jedné straně pituitární hypoplazii až obraz empty sella, u některých pacientů ale také pituitární hyperplázii, která může imitovat intrasellární tumor.

V rámci české národní studie byl defekt *PROP1* genu prokázán u 17 pacientů (9 chlapců/mužů, 8 žen/dívek) s kombinovaným deficitem hormonů hypofýzy ve věku 3,5-74 let, včetně tří sourozeneckých dvojic. Při detailním morfologickém zhodnocení zobrazovacími metodami byl obraz hypoplázie hypofýzy až empty sella přítomen u deseti pacientů, u jednoho byla konfigurace hypofýzy normální a u šesti pacientů byl zjištěn různý stupeň pituitární hyperplázie. Rozložení nálezů podle věku prvního vyšetření podporuje hypotézu o hyperplazii hypofýzy v prvních letech života, která je následována spontánní regresí vedoucí k obrazu hypoplázie hypofýzy až empty sella.

Klíčová slova

PROP1, deficit růstového hormonu, kombinovaný deficit hormonů hypofýzy, magnetická rezonance, empty sella

Summary

PROP1 gene mutations lead to multiple pituitary hormone deficiency including impaired secretion of growth hormone, TSH, prolactin, FSH/LH and ACTH. An additional typical feature is abnormal pituitary morphology. The findings may range from pituitary hypoplasia or empty sella to pituitary hyperplasia that may imitate an intrasellar expansion.

Within a Czech national study, the *PROP1* gene defect was found in 17 patients with multiple pituitary hormone deficiency (9 males, 8 females; age 3.5-74 years)

including 3 pairs of siblings. A detailed morphological evaluation using imaging techniques showed pituitary hypoplasia or empty sella in ten subjects, normal pituitary in one and various degrees of pituitary hyperplasia in six. The distribution of findings according to age at first examination supports the hypothesis on pituitary hyperplasia within the first years of life, followed by a spontaneous regression leading to pituitary hypoplasia or empty sella.

Key words

PROP1, growth hormone deficiency, multiple pituitary hormone deficiency, magnetic resonance imaging, empty sella

Deficit růstového hormonu (growth hormone deficiency, GHD) je relativně časté endokrinní onemocnění, které se dle různých zpráv vyskytuje u jednoho z 2000-10000 živě narozených dětí [9, 17]. Dle klasických učebnic se rozděluje na organicky podmíněný GHD (tumory hypotalamo-hypofyzární oblasti, stavy po ozáření hlavy atd.), který představuje 20-30 % všech případů, a idiopatický GHD u všech ostatních postižených dětí.

S rozvojem poznání v oblasti molekulární genetiky se daří u části pacientů s „idiopatickou“ formou GHD identifikovat různé genové defekty jako příčinu GHD. Dvě skupiny genů zodpovídají jednak za izolovaný GHD, jednak za GHD spojený s deficitem alespoň jednoho dalšího hypofyzárního hormonu (multiple pituitary hormone deficiency, MPHD).

Izolovaný GHD může být způsoben mutací genu pro růstový hormon (*GH1*) nebo defektem genu pro receptor growth hormone-releasing hormonu (*GHRH-R*). Obě tyto poruchy jsou vzácné.

Kombinovaný deficit hormonů hypofýzy (MPHD) může být podmíněn defektem v některém z genů kódujících transkripční faktory, které se podílejí na regulaci embryonálního vývoje hypofýzy. Relativně častou příčinou MPHD jsou mutace v genech *PROP1* a *POU1F1*, ojedinělými nálezy jsou mutace v genech *HESX1*, *LHX3* a *LHX4*. Pro defekty v genu *POU1F1* je typický kombinovaný deficit

růstového hormonu (GH), TSH a prolaktinu (PRL), pro defekty v genu *PROP1* navíc ještě deficit FSH/LH a v některých případech i ACTH [1].

Mutace v *PROP1* genu jsou kromě hormonálních deficitů spojeny i se změnami morfologie hypofýzy charakteru hyper- či hypoplázie. Některá pozorování naznačují, že velikost hypofýzy se může během života měnit [14]. Hyperplázie hypofýzy může imponovat až jako intrasellární tumor. V minulosti byli proto někteří postižení pacienti zbytečně neurochirurgicky operováni.

V rámci české národní studie genových defektů spojených s GHD jsme identifikovali poměrně početnou skupinu pacientů s mutacemi v *PROP1* genu. Součástí této studie bylo také detailní posouzení pituitární morfologie.

Pacienti

Do studie bylo zařazeno 17 pacientů (9 mužů/chlapců, 8 žen/dívek) ve věku 3,5-74 let z českých center pro léčbu růstovým hormonem pro děti i pro dospělé, včetně tří sourozeneckých dvojic. Sourozenecké páry jsou v oddílu výsledků označeny čísly 3+12, 5+7 a 14+16.

U všech pacientů byl prokázán kombinovaný deficit hormonů hypofýzy na podkladě mutace v genu *PROP1* a bylo k dispozici nejméně jedno zobrazovací vyšetření CNS.

Metody

Molekulárně-genetické vyšetření

Genomická DNA byla extrahována z buněk periferní krve užitím vysolovací reakce [11]. Exony genu *PROP1* byly amplifikovány pomocí PCR na přístrojích

Mastercycler (Eppendorf) nebo Mastercycler gradient (Eppendorf) za použití

specifických primerů: F1 - TGT AAA ACG ACG GCC AGT CAG GTG TGG AGA

GGA GCT, R1 - CAG GAA ACA GCT ATG ACC ATG CTT TCA GCC TCA CAC,

F2 - AGG CAC ATG TGG TCC AGC ACC, R2 - GAT AGC ACC AAA GAA ATC

TGC, F3 - TGT AAA ACG ACG GCC AGT TCA CCC CTA CAG CCA TGC CC, R3

- CAG GAA ACA GCT ATG ACC TCA GAC TGG TGT GAC AAA GC. K amplifikaci exonů 1 a 2 byl použit kit TaqPCR Core Kit (Qiagen) podle následujícího protokolu: 50 µl reakční směsi obsahovalo přibližně 200 ng genomické DNA, 12,5 µl obou primerů, 1,25 jednotky Taq DNA polymerázy, 10 nmol každého z deoxynukleotidů a 5 µl PCR pufru. K amplifikaci exonu 3 byl použit PCR Master Mix (Promega) podle následujícího protokolu: 50 µl reakční směsi obsahovalo přibližně 200 ng genomické DNA, 12,5 µl obou primerů a 25 µl PCR Master Mixu (Promega). PCR program sestával z 5 minut při 95°C následovaných 33 cykly: 1 min při 95°C, 1 min při anilační teplotě (62°C pro exon 1, 56°C pro exon 2 a 60°C pro exon 3) a 30 sec při 72°C. Po purifikaci PCR produktů pomocí kitu QIAquick® PCR Purification Kit (Qiagen) byla provedena obousměrná automatická sekvenace na sekvenátoru ABI PRISM™ 310 Genetic Analyser (Applied Biosystems) pomocí kitu BigDye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) podle protokolu výrobce. K sekvenaci byly u exonu 2 byly použity stejné primery jako k PCR amplifikaci. U exonů 1 a 3 tohoto genu byly použity univerzální primery F - TGT AAA ACG ACG GCC AGT a R - CAG GAA ACA GCT ATG ACC. Výsledky sekvenace DNA byly vyhodnoceny pomocí softwaru GeneTool nebo GeneTool 2.0 (BioTools Incorporated).

Zobrazovací vyšetření CNS

Standardní zobrazovací vyšetření CNS bylo provedeno v místě sledování jednotlivých pacientů. U 16 z nich se jednalo o vyšetření magnetickou rezonancí (MRI), v jednom případě o vyšetření počítačovou tomografií (CT). Snímky z jednotlivých pracovišť byly následně vyhodnoceny jedním rentgenologem s mimořádnou erudicí v hodnocení nálezů v oblasti hypofýzy.

Výsledky

Molekulárně-genetické vyšetření

U pacientů byly detekovány celkem tři již dříve popsané typy mutací - frameshift mutace 150delA a 301delGA v druhém exonu a bodová mutace 349T>A. Všechny tyto mutace mají recesivní typ dědičnosti a u pacientů se vyskytovaly v kombinacích. Osm pacientů bylo složenými heterozygoty pro 150delA/301delGA, osm bylo homozygoty pro 301delGA a jeden pacient byl složeným heterozygotem pro 301delGA/349T>A.

Zobrazovací vyšetření CNS

Normální morfologie hypofýzy byla zastižena pouze u jednoho pacienta (pacient č. 12).

U deseti pacientů byl objem hypofýzy významně zmenšen. Ve třech případech byl hodnocen jako pituitární hypoplázie (pacienti č. 8, 9 a 11), v sedmi případech jako obraz empty sella (pacienti č. 2, 4, 6, 13, 14, 16 a 17).

U šesti pacientů byl nalezen zvětšený objem hypofýzy, který by bylo možné hodnotit jako pituitární expanzi (pacienti č. 1, 3, 5, 7, 10 a 15). U čtyř pacientů (pacienti č. 1, 2, 5 a 7) byla provedena dvě vyšetření s časovým odstupem 1,7, 3,9, 0,7 a 0,7 roku. Ve všech případech byl nález na hypofýze stacionární. Výsledky shrnuje tab. 1.

Tabulka 1. Přehled výsledků u 17 pacientů s defektem PROP1 genu

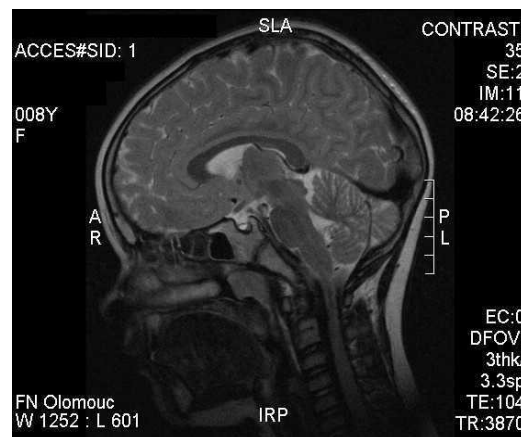
pacient	pohlaví	genotyp	věk při vyšetření (let)	morfologický popis nálezu na hypofýze (MRI resp. CT)
1	m	150delA/301delGA	3,5	„adenom hypofýzy“
			5,2	„adenom hypofýzy“
2	ž	301delGA/349T>A	6,2	empty sella
			10,1	empty sella
3	ž	301delGA/301delGA	8,4	„adenom hypofýzy“ (cystický mikroadenom)
4	m	301delGA/301delGA	10,3	empty sella
5	ž	301delGA/301delGA	12,1	„adenom hypofýzy“ + „adenom infundibula“
			12,8	„adenom hypofýzy“ + „adenom infundibula“
6	m	301delGA/301delGA	12,6	empty sella

7	ž	301delGA/301delGA	13,4	„adenom hypofýzy“
			14,1	„adenom hypofýzy“
8	ž	150delA/301delGA	13,8	hypoplázie hypofýzy
9	m	150delA/301delGA	17,8	hypoplázie hypofýzy
10	m	150delA/301delGA	18,5	„adenom hypofýzy“
11	ž	150delA/301delGA	21,8	hypoplázie hypofýzy
12	m	301delGA/301delGA	23,4	normální nález
13	m	150delA/301delGA	24,5	empty sella
14	ž	150delA/301delGA	24,9	empty sella
15	m	301delGA/301delGA	34,7	„adenom hypofýzy“
16	m	150delA/301delGA	35,4	empty sella
17	ž	301delGA/301delGA	74,0	empty sella

Pacient 1 - „adenom hypofýzy“ 9x8 mm (MRI T1W – sagitální řez)



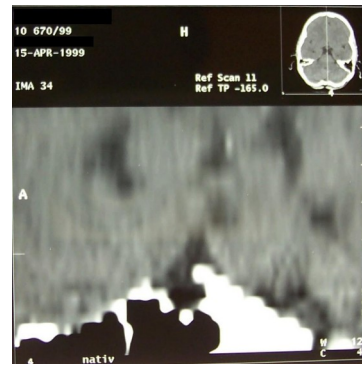
Pacient 3 - „cystický mikroadenom hypofýzy“ 2,9x3,7 mm (MRI T2W – sagitální řez)



Pacient 2 - empty sella (MRI T1W – sagitální řez)



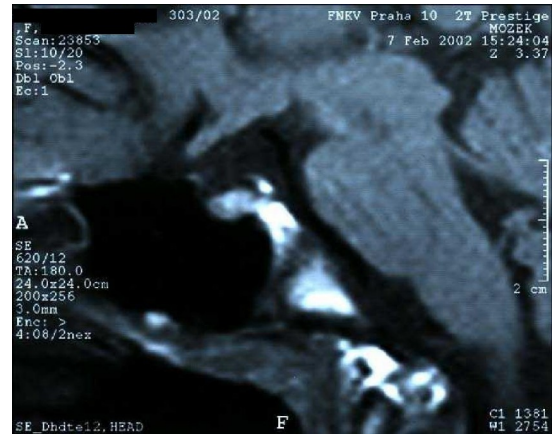
Pacient 4 - empty sella (CT – sagitální řez, rekonstrukce ve střední čáře)



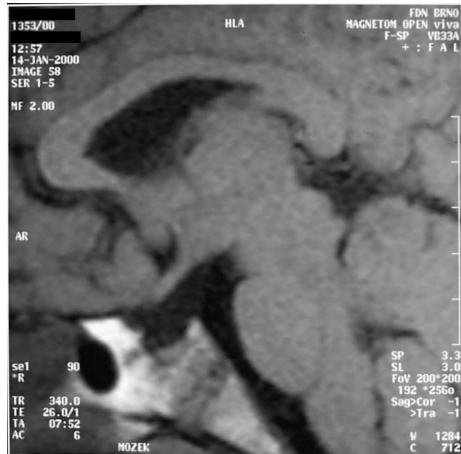
Pacient 5 - „adenom hypofýzy“ 14x16x14 mm + další „adenom“ o průměru 6 mm v oblasti infundibula (MRI T1W – gradient - pilot)



Pacient 8 - hypoplázie hypofýzy (MRI T1W – sagitální řez)



Pacient 6 - empty sella (MRI T1W – sagitální řez)



Pacient 9 - hypoplázie hypofýzy (MRI T1W – gradient)



Pacient 7 - „adenom hypofýzy“ 16x14x13 mm (MRI T1W – gradient - pilot)



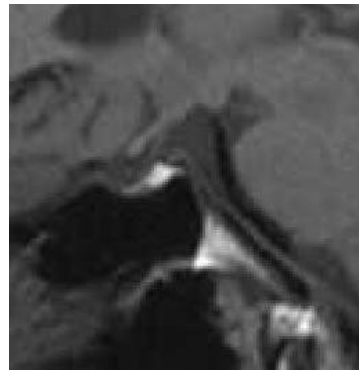
Pacient 10 - „adenom hypofýzy“ 14,2x13,2 mm (MRI T1W – sagitální řez)



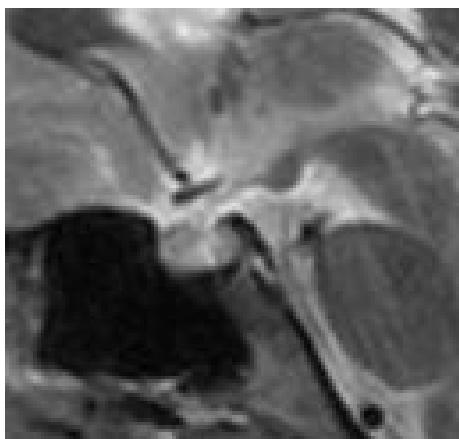
Pacient 11 - hypoplázie hypofýzy (MRI T1W – sagitální řez)



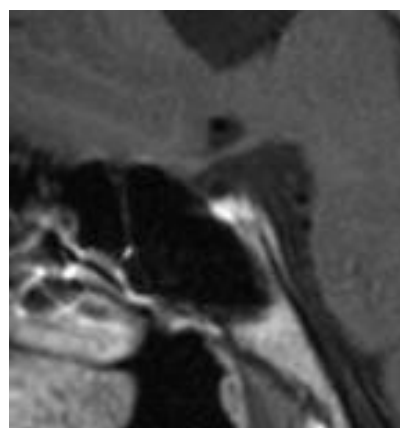
Pacient 14 - empty sella (MRI T1W – sagitální řez)



Pacient 12 - normální nález (MRI T2W – sagitální řez)



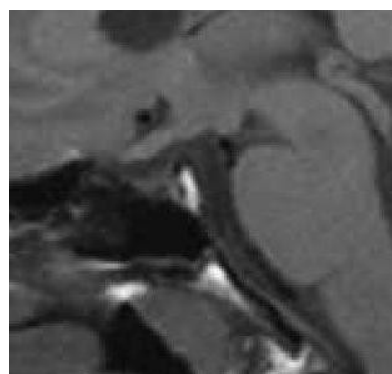
Pacient 15 - „adenom hypofýzy“ 9,5x7,5x7,5 mm (MRI T1W – sagitální řez)



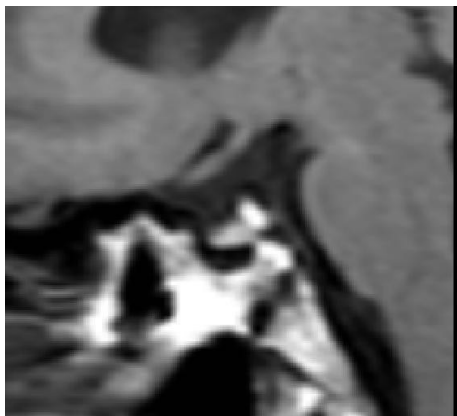
Pacient 13 - empty sella (MRI T1W – sagitální řez)



Pacient 16 - empty sella (MRI T1W – sagitální řez)



Pacient 17 - empty sella (MRI T1W – sagitální řez)



Diskuse

Embryonální morfogeneze a diferenciaci hypofýzy je komplexní proces, na jehož regulaci se podílí řada genů [4]. Narušení tohoto procesu může vyústit v poruchu funkce hypofýzy, která se projeví kombinovaným deficitem pituitárních hormonů. U člověka byly dosud jako příčina MPHHD popsány mutace v genech *PROP1*, *POU1F1*, *HESX1*, *LHX3* a *LHX4*. Všechny tyto geny kódují jednotlivé transkripční faktory.

PROP1 gen kóduje transkripční faktor, zodpovědných za diferenciaci specializovaných buněčných linií v druhé fázi embryonálního vývoje hypofýzy. Zabírá 3kb na chromozomu 5q a obsahuje 3 exony. Protein kódovaný tímto genem má délku 226 aminokyselin a ve své struktuře obsahuje doménu vážící se na DNA a transkripční aktivační doménu [5]. Expresí genu *PROP1* je nezbytná pro regulaci exprese genu *POU1F1* a pravděpodobně hraje i důležitou roli v ukončení exprese genu *HESX1*.

Mutace v genu *PROP1* vedou ke vzniku kombinovaného deficitu hormonů hypofýzy zahrnujícího deficit GH, TSH, PRL a FSH/LH [7, 12, 14, 15, 18], později v životě často dochází i k rozvoji deficitu ACTH [1]. GHD obvykle vede k výrazné redukci výšky, vzácně byl u pacientů s defektem v *PROP1* genu popsán i normální růst a normální dospělá výška [2]. Hormonální deficity se mohou rozvíjet již během

dětství, ale i později v životě, mají však progresivní charakter a postupně dojde téměř vždy k rozvoji úplného fenotypu [3, 6].

Obvyklým nálezem u pacientů s *PROP1* mutací při zobrazovacím vyšetření hypofýzy je malá nebo normální adenohypofýza s normálně konfigurovanou neurohypofýzou [6, 8, 12, 15, 18], u některých pak bývá popisována hyperplázie předního laloku hypofýzy připomínající tumor. Tento nález bývá nalézán v prvních dvou, nejvýše třech dekádách života [10, 14, 15].

Pacienti s hyperplastickou hypofýzou jsou obvykle nosiči mutace 301delGA, případně v kombinaci s mutací 150delA. Souvislost mezi typem mutace a hyperplazií hypofýzy však není jednoznačná, protože u jiných pacientů se stejnou mutací nebyla hyperplázie zachycena [10, 14, 15] a vzhled hypofýzy se může lišit i mezi sourozenci [13]. Pokud byla v některých případech v minulosti vyšetřena tkáň hyperplastické hypofýzy histologicky, byl nález zcela nespecifický – byl nalezen amorfni materiál, neobsahující žádné specifické buněčné linie. Zvětšení hypofýzy není stacionární, buněčné masy mají tendenci regredovat, což vyústuje v hypoplazii hypofýzy až v obraz empty sella [10, 14].

Mechanismus vzniku hyperplázie a následné regrese buněčné masy není známý. Vzhledem k tomu, že jednou z předpokládaných funkcí genu *PROP1* je účast na ukončení exprese časově předcházejících transkripčních faktorů *HESX1* a *LHX3*, nabízí se spekulace, že prodloužená exprese *HESX1* a *LHX3* genů umožňuje delší přežívání a množení nediferencovaných prekurzorových buněk adenohypofýzy a teprve opožděné vyhasínání aktivity těchto transkripčních faktorů pak vede k regresi hyperplastické hypofýzy [16].

V naší studii jsme popsali morfologické nálezy na hypofýze u velmi početné sestavy 17 pacientů s mutací v *PROP1* genu. V souladu s literárními údaji byla častějším nálezem hypoplázie hypofýzy nebo obraz empty sella (celkem 10/17). Pouze ojedinělý byl nález normálně konfigurované hypofýzy (1/17). U šesti pacientů jsme v oblasti hypofýzy identifikovali hyperplazii až expanzi. Zajímavé je rozložení morfologických obrazů podle věku prvního vyšetření (tab. 2), i když vyšetřené počty pacientů jsou poměrně malé pro spolehlivé statistické zhodnocení. Ve skupině tři pacientů mladších 10 let jsme hypofyzární hyperplazii/expanzi našli v 67 %, u sedmi pacientů ve věku 11-20 let ve 43 % a u sedmi pacientů starších než 20 let u jediného (14 %).

Pokles četnosti hyperplázie/expanze hypofýzy s věkem pacienta by tedy mohl odpovídat představě, že v útlém věku se hypofýza zvětšuje, zatímco v dalších dekádách života postupně regreduje do obrazu pituitární hypoplázie až empty sella.

Tabulka 2. Rozložení morfologických nálezů na hypofýze dle věku pacientů s defektem *PROP1* genu

věk (let)	hyperplázie	normální hypofýza	hypoplázie/empty sella
0-10	2/3	0	1/3
11-20	3/7	0	4/7
více než 20	1/7	1/7	5/7

Závěr

Mutace v genu *PROP1* způsobují kombinovaný deficit hormonů hypofýzy a morfologické změny hypofýzy, které zahrnují jednak hypoplazii hypofýzy až obraz empty sella a jednak hyperplazii hypofýzy. Tato hyperplázie je přechodná, nikdy nebyl pozorován její expanzivní charakter a dle současných názorů nevyžaduje léčbu.

Věková distribuce nálezů v sestavě 17 pacientů s mutací v *PROP1* genu podporuje teorii, že v útlém dětství dochází k hyperplazii hypofýzy, která následně spontánně regreduje do obrazu hypoplázie až empty sella.

Studie byla podpořena výzkumným záměrem MSM číslo 0021620814.

Literatura

1. Agarwal, G., Bhatia, V., Cook, S., Thomas, P.Q.: Adrenocorticotropin deficiency in combined pituitary hormone deficiency patients homozygous for a novel *PROP1* deletion. *J Clin Endocr Metab*, 85, 2000, s. 4556 - 4561
2. Arroyo, A., Pernasetti, F., Vasilyev, V.V., Amato, P., Yen, S.S., Mellon, P.L.: A unique case of combined pituitary hormone deficiency caused by a *PROP1*

- gene mutation (R120C) associated with normal height and absent puberty. Clin Endocrinol (Oxf), 57, 2002, s. 283 - 291
3. Böttner, A., Keller, E., Kratzsch, J., Stobbe, H., Weigel, J.F.W., Keller, A., Hirsch, W., Kiess, W., Blum, W.F., Pfäffle, R.W.: *PROP1* mutations cause progressive deterioration of anterior pituitary function including adrenal insufficiency: A longitudinal analysis. J Clin Endocr Metab, 89, 2004, s. 5256 - 5265
 4. Dattani, M.T.: Novel insights into the aetiology and pathogenesis of hypopituitarism. Horm Res, 62, 2004, suppl 3, s. 1 - 13
 5. Duquesnoy, P., Roy, A., Dastot, F., Ghali, I., Teinturier, C., Netchine, I., Cacheux, V., Hafez, M., Salah, N., Chaussain, J.L., Goossens, M., Bougneres, P., Amselem, S.: Human Prop-1: cloning, mapping, genomic structure: mutations in familial combined pituitary hormone deficiency. FEBS Lett, 437, 1998, s. 216 - 220
 6. Fluck, C., Deladoey, J., Rutishauser, K., Eble, A., Marti, U., Wu, W., Mullis, P.E.: Phenotypic variability in familial combined pituitary hormone deficiency caused by a *PROP1* gene mutation resulting in the substitution of arg to cys at codon 120 (R120C). J Clin Endocr Metab, 83, 1998, s. 3727 - 3734
 7. Fofanova, O., Takamura, N., Kinoshita, E., Parks, J.S., Brown, M.R., Peterkova, V.A., Evgrafov, O.V., Goncharov, N.P., Bulatov, A.A., Dedov, I.I., Yamashita, S.: Compound heterozygous deletion of the PROP-1 gene in children with combined pituitary hormone deficiency. J Clin Endocr Metab, 83, 1998, s. 2601 - 2604
 8. Fofanova, O., Takamura, N., Konoshita, E.: MR imaging of the pituitary gland in children and young adults with congenital combined pituitary hormone deficiency associated with *PROP1* mutations. Am J Radiol, 174, 2000, s. 555 - 559
 9. Lacey, K.A., Parkin, J.M.: Causes of short stature. A community study of children in Newcastle upon Tyne. Lancet, 1974, No. 1, s. 42 - 45
 10. Mendonca, B.B., Osorio, M.G., Latronico, A.C., Estefan, V., Lo, L.S., Arnhold, I.J.: Longitudinal hormonal and pituitary imaging changes in two females with combined pituitary hormone deficiency due to deletion of A301, G302 in the *PROP1* gene. J Clin Endocr Metab, 84, 1999, s. 942 - 945

11. Miller, S.A. et al.: A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Research*, 85, 1988, s. 1215
12. Osorio, M.G.F., Kopp, P., Marui, S., Latronico, A.C., Mendonca, B.B., Arnhold, I.J.P.: Combined pituitary hormone deficiency caused by a novel mutation of a highly conserved residue (F88S) in the homeodomain of PROP-1. *J Clin Endocr Metab*, 85, 2000, s. 2779 - 2785
13. Pernasetti, F., Toledo, S.P.A., Vyacheslav, V.V.: Impaired adrenocorticotropin-adrenal axis in combined pituitary hormone deficiency caused by two-base pair deletion (301-302delAG) in the Prophet of Pit-1 gene. *J Clin Endocr Metab*, 83, 2000, s. 390 - 397
14. Riepe, F.G., Partsch, C.J., Blankenstein, O., Monig, H., Pfaffle, R.W., Sippell, W.G.: Longitudinal imaging reveals pituitary enlargement preceding hypoplasia in two brothers with combined pituitary hormone deficiency attributable to *PROP1* mutation. *J Clin Endocr Metab*, 86, 2001, s. 4353 - 4357
15. Rosenbloom, A.L., Almonte, A.S., Brown, M.R., Fisher, D.A., Baumbach, L., Parks, J.S.: Clinical and biochemical phenotype of familial anterior hypopituitarism from mutation of the *PROP1* gene. *J Clin Endocr Metab*, 84, 1999, s. 50 - 57
16. Sornson, M.W., Wu, W., Dasen, J.S., Flynn, S.E., Norman, D.J., O'Connell, S.M., Gukovsky, I., Carriere, C., Ryan, A.K., Miller, A.P., Zuo, L., Gliberman, A.S., Andersen, B., Beamer, W.G., Rosenfeld, M.G.: Pituitary lineage determination by the Prophet of Pit-1 homeodomain factor defective in Ames dwarfism. *Nature*, 384, 1996, s. 327 - 333
17. Vimpani, G.V., Vimpani, A.F., Lidgard, G.P., Cameron, E.H., Farquhar, J.W.: Prevalence of severe growth hormone deficiency. *Br Med J*, 1977, No., s. 427 - 430
18. Wu, W., Cogan, J.D., Pfaeffle, R.W., Dasen, J.S., Frisch, H., O'Connell, S.M., Flynn, S.E., Brown, M.R., Mullis, P.E., Parks, J.S., Phillips, J.A.^{3rd}, Rosenfeld, M.G.: Mutations in *PROP1* cause familial combined pituitary hormone deficiency. *Nat Genet*, 18, 1998, s. 147 - 149

7. Léčba růstovým hormonem

7.1. Článek 6

(Vosahlo J, Zidek T, Lebl J, Riedl S, Frisch H. Validation of a mathematical model predicting the response to growth hormone treatment in prepubertal children with idiopathic growth hormone deficiency. *Horm Res* 2004(61);3:143-7)

Validation of a mathematical model predicting the response to growth hormone treatment in prepubertal children with idiopathic growth hormone deficiency

Short title: Validation of a height prediction model for GH therapy

This paper is dedicated to Prof Dr. MB Ranke on the occasion of his 60th birthday.

J. Vosahlo^a, T. Zidek^b, J. Lebl^a, S. Riedl^c, H. Frisch^c

^a Paediatric Department, 3rd Faculty of Medicine, Prague, Czech Republic

^b Cancer Research Institute, Department of Epidemiology, University of Vienna, Austria

^c Paediatric Department, University of Vienna, Austria

Key Words

GH deficiency · GH therapy · short stature · growth response · height prediction model

Abstract

A mathematical model developed by Ranke et al. [1] for prediction of the growth response during the first years of GH replacement therapy was validated in a cohort of 38 children with idiopathic GHD. Our patients met all inclusion criteria for the prediction model, but the group differed in some basic characteristics from the cohort from which the model was derived (age 6.3 vs. 7.3 years, height -3.5 SDS vs. -2.6 SDS, mean parental height 0.3 vs. -0.6 SDS, maximum GH 2.2 vs. 5.6 µg/L, GH dose 0.5 vs. 0.6 IU/kg/week). Using the model for the first year including maximum GH after stimulation and the equation for the sixth year, the predicted value corresponded well with actual height gain. Differences were found when growth response of the first year excluding maximum GH and of the second to fifth year were calculated, resulting in significant underestimation of actual height gain (-0.63 to -1.07 cm/year). In conclusion, the mathematical prediction model tended to underpredict growth response to GH treatment in our patients with pronounced GHD. Severity of GHD seems to be an important parameter for the first year prediction. Daily injections may be an additional factor improving growth response.

Introduction

Growth hormone (GH) was first used for treatment of GH deficiency (GHD) in 1958 [2]. Until 1985, GH was extracted from human pituitaries which limited its availability. Only children with severe GHD were treated and the doses were relatively low. In 1985, recombinant human GH became available which resulted in increasing numbers of GH-deficient patients being treated and a variety of new indications for GH therapy.

It is obvious that children with different aetiologies of short stature will respond in different ways and may require distinct treatment modalities. Experiences collected from large numbers of patients demonstrate a considerable interindividual variability of GH treatment response. Prediction models have been developed to calculate the expected growth response per year in order to optimize GH therapy in various growth disorders [3, 4,5,6,7]. Based on pre-treatment data

they may help to decide whether a patient is suitable for GH treatment and what outcome can be expected.

The aim of our study was to validate a mathematical growth prediction model, which was developed by Ranke et al [1] and is based on data accumulated in the Kabi International Growth Study (KIGS) database [8], in an independent group of GH-treated prepubertal children with idiopathic GHD.

Patients and Methods

Data from 38 prepubertal patients (13 girls and 25 boys) with idiopathic GHD diagnosed and treated at the Paediatric Department, University of Vienna, Austria, and at the Paediatric Department, 3rd Faculty of Medicine, Prague, Czech Republic, were analyzed. Patients were treated with recombinant human GH. The same inclusion criteria were used as in the original cohort from whom the model was derived [1]. Only patients with a peak GH level of 10 µg/L or less following a standard GH provocation test were included. Small for gestational age children were not included. The girls had a breast development stage B1 according to Tanner and the boys had a testes volume of 3 ml or less. The age at onset of GH therapy was between 2-12 years in girls and 2-10 years in boys. Height measurements for calculation of height velocity were performed in at least annual intervals. Patients generally received 7 injections GH per week.

According to the original study, height standards from Tanner et al. [9] and weight standards from Freeman et al. [10] were used to calculate height and weight SDS, respectively. Birth weight SDS according to gestational age was derived by the standards of Niklasson et al. [11]. MPH-SDS, based on Tanner et al. [9], was calculated using the formula provided by Ranke [12].

The provided mathematical models [1] were used to calculate predicted height velocities of the first, second, third, fourth, fifth, and sixth year of GH replacement therapy. Two models were used for the first treatment year, one including maximum GH response to provocation and one not including this variable (table 1). The equation for the fourth year was also used to calculate expected height velocities for the fifth and sixth year of therapy, according to the original

publication. For calculation of statistical differences of characteristics of the reference vs. our study group, unpaired t-tests were performed. Differences between predicted height velocity by the model and actual observed height gain were calculated using paired t-tests for each year. A two-sided p-value < 0.05 was considered to be statistically significant. All calculations were done using SPSS 9.0 for Windows.

Table 1. Mathematical equations [1] used for height prediction

First year (including GH max)	$PHV = 14.55 - 1.37*GH\ max - 0.33*age\ at\ onset + 0.32*birth\ wt + 1.62*GH\ dose - 0.40*(ht-MPH) + 0.29*wt$
First year (not including GH max)	$PHV = 12.41 - 0.36*age\ at\ onset + 0.47*birth\ wt + 1.54*GH\ dose - 0.60*(ht-MPH) + 0.28*wt$
Second year	$PHV = 5.69 - 0.09*age\ at\ onset + 0.63*GH\ dose + 0.24*body\ wt + 0.31*ht\ velocity\ previous\ year$
Third year	$PHV = 5.61 - 0.10*age\ at\ onset + 0.66*GH\ dose + 0.30*body\ wt + 0.32*ht\ velocity\ previous\ year$
Fourth year	$PHV = 6.03 - 0.05*age\ at\ onset + 0.87*GH\ dose + 0.40*body\ wt + 0.21*ht\ velocity\ previous\ year$

PHV	predicted height velocity (cm/year)
GH max	maximum GH response in provocation tests (µg/L)
age at onset	age at onset of GH replacement therapy (years)
birth wt	birth weight (SD score)
GH dose	dose of GH (IU/kg/week)
ht	height at the beginning of GH therapy (SD score)
MPH	midparental height (SD score)
wt	body weight at the beginning of GH therapy (SD score)

Results

Patients characteristics

Characteristics of our patients at the start of GH therapy in comparison with the original cohort from which the prediction model was derived are shown in table 2. Except for birth weight, all differences reached the level of statistical significance.

Table 2. Patient characteristics in comparison with the original cohort (KIGS)

	our cohort (n=38)	original cohort [1] (n=593)	
	Mean ± SD	Mean ± SD	p-value
Age (years)	6.3 ± 1.8	7.3 ± 2.4	0.01
Height (SDS)	-3.5 ± 1.1	-2.6 ± 0.8	< 0.001
Weight (SDS)	-3.3 ± 1.5	-2.2 ± 1.3	< 0.001
MPH (SDS)	0.3 ± 1.0	-0.6 ± 1.0	< 0.001
Height-MPH (SDS)	-3.8 ± 1.4	-1.9 ± 1.4	< 0.001
Birth weight (SDS)	-0.5 ± 0.7	-0.5 ± 0.9	ns
Max GH peak (µg/L)	2.2 ± 1.9	5.6 ± 2.8	< 0.001
GH dose (IU/kg/week)	0.5 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.002

Observed versus predicted height velocity

Observed and predicted height velocities (HV) for each year of therapy are shown in table 3 and figure 1. Complete data were available for 38, 35, 27, 21, 15 and 10 patients for the first, second, third, fourth, fifth, and sixth year of GH replacement therapy, respectively. No significant difference between observed and predicted HV was found for the first year of therapy when maximum GH was included and for the sixth year of treatment. However, predicted HV was significantly lower during the first year when the maximum GH value was not included (-1.0 cm/year) and for the second, third, fourth and fifth treatment year, respectively. In all cases, calculations underestimated actual height gain, ranging from -0.63 to -1.07 cm/year.

Table 3. Observed versus predicted height velocity (HV) during GH treatment

Year	Observed HV [cm/year, mean ± SD]	Predicted HV [cm/year, mean ± SD]	Δ predicted vs. observed HV [cm/year (%)]	p-value
1	11.23 ± 2.79	11.33 ± 1.84* / 10.23 ± 1.27**	0.1 (-0.9) / -1.0 (-8.9)	ns / 0.01
2	8.17 ± 1.96	7.51 ± 1.06	-0.66 (-8.1)	0.01
3	6.93 ± 1.5	6.3 ± 0.95	-0.63 (-9.1)	0.01
4	6.48 ± 1.16	5.56 ± 0.78	-0.92 (-14.2)	0.001
5	6.86 ± 1.67	5.79 ± 0.56	-1.07 (-15.6)	< 0.05
6	6.19 ± 1.14	6.0 ± 0.65	-0.19 (-3.1)	ns

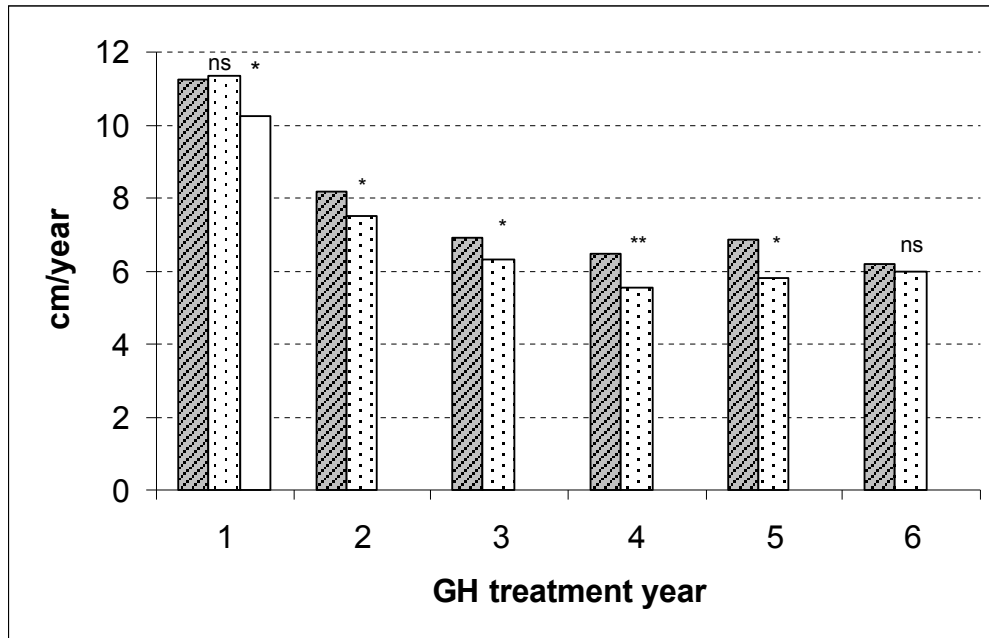
*including GH max

**not including GH max

Figure 1. Observed and predicted annual height gain in patients with idiopathic GHD.

(first treatment year including respectively excluding GH peak)

* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$



Discussion

Models for prediction of response to exogenous GH are mathematical equations combining various anamnestic and diagnostic variables which enable the calculation of expected height velocity at the beginning or in the early phase of GH treatment. They are derived from large data sets obtained from clinical studies. To date, various prediction models for GH treatment response in children with various aetiologies of short stature have been presented [1,3,4,5,6,7]. The model validated in our study was developed by Ranke et al. [1] for prediction of growth response during the first years of GH replacement therapy in prepuberal children with idiopathic GHD and was derived from the KIGS database [8]. In this model, only easily accessible variables were chosen excluding any laboratory parameter except maximum GH response to provocation.

In our study group the calculation for the first treatment year including maximum GH and for the sixth year resulted in concurring data between actual and predicted height gain. Using the equation for the first year without maximum GH and for the second, third, fourth, and fifth year resulted in significantly lower prediction values, ranging from -0.63 to -1.07 cm/year (figure 1).

Although the same inclusion criteria as in the original cohort were applied to select patients for validation, our patients differed in several basis parameters (table 2). The severity of GHD was more pronounced in our subjects which is shown by a significantly lower mean GH peak after provocation test. In other words, in the original group patients with less severe GHD were included, and it is well known that these patients will respond less favourable to GH treatment [13]. In addition, our group was composed from only two university centres applying rather stringent criteria for diagnosis and laboratory methods which may help to reduce the variability arising from data composition from a large number of centres. In fact, the KIGS group was compiled by many independent investigators from many countries and actually is very heterogeneous. The more pronounced severity of GHD in our group is also shown by the fact that patients were significantly shorter at the time of diagnosis and had a significantly lower height-MPH score as compared to the original cohort (table 2). This highly significant difference is even increased by the fact that MPH in the original group was -0.6 SDS and was $+0.3$ SDS in our cohort. As there is a strong correlation between parent's height and their children [14], it might be speculated that genetic factors in the original group contributed to short stature to a larger extent than in our validation group. The more pronounced severity of GHD is also reflected by the fact, that growth prediction underestimated actual height gain despite significantly lower GH doses used in the study group. Finally, the earlier time of diagnosis and onset of GH therapy might be another factor for the better growth response in our group according to the equations where age at onset is a subtraction factor.

The fact that the original cohort was very heterogeneous was already discussed by Ranke et al. in the original publication who also observed better growth responses in case of low GH secretory capacity. This tendency was shown in the more homogeneous original non-KIGS validation groups (OZGROW and Tubingen patients) with lower GH peaks and younger age at start of GH treatment [1]. In

contrast to our findings, actual height gain during the following GH-treatment years did not differ significantly from predicted growth in these patients.

The frequency of GH injections is not considered in the equations though Ranke et al. concede that there might be improved height gain if GH is administered daily [1]. In the original group only about 50% of patients were receiving 7 injections per week while in our validation group daily injections were a common practice. Since a positive correlation between height velocity and frequency of injections has been documented [3,15], it is likely that this may be another factor contributing to the difference between actual growth response and prediction in our patients.

In conclusion, the mathematical model by Ranke et al. [1] showed a good concordance with actual height gain using the first year equation including maximum GH response to testing and the equation for the sixth year of GH treatment. The first year model excluding maximum GH response and the models for the second to fifth year significantly underestimated the growth response in children with severe GH deficiency. Maximum GH seems to be an important predictor and should therefore be included in growth prediction models. Daily injections versus 6 injections per week may also add to improved actual height gain.

References

- 1 Ranke MB, Lindberg A, Chatelain P, Wilton P, Cutfield W, Albertsson-Wikland K, Price DA: Derivation and Validation of a Mathematical Model for Predicting the Response to Exogenous Recombinant Human Growth Hormone (GH) in Prepubertal Children with Idiopathic GH Deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:1174-1183
- 2 Raben MS: Treatment of a pituitary dwarf with human growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1958;18:901-903
- 3 Blethen SL, Compton P, Lippe BM, Rosenfeld RG, Augustus GP, Johanson A: Factors predicting the response to growth hormone (GH) therapy in prepubertal children with GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:574-579

- 4 Albertsson Wikland K, Kriström B, Rosberg S, Svensson B, Nierop AFM: Validated Multivariate Models Predicting the Growth Response to GH Treatment in Individual Short Children with a Broad Range in GH Secretion Capacities. *Pediatr Res* 2000;48:475-484
- 5 Ranke MB, Lindberg A, Chatelain P, Wilton P, Cutfield W, Albertsson Wikland K, Price DA: Prediction of Long-term Response to Recombinant Human Growth Hormone in Turner Syndrome: Development and Validation of Mathematical Models. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4212-4218
- 6 Schoenau E, Westermann F, Rauch F, Stabrey A, Wassmer G, Keller E, Brämwig J, Blum WF: A new and accurate model for growth response to growth hormone treatment in children with growth hormone deficiency. *European Journal of Endocrinology* 2001;144:13-20
- 7 Ranke MB, Lindberg A, Cowell CT, Albertsson Wikland K, Reiter EO, Wilton P, Price DA: Prediction of Response to Growth Hormone Treatment in Short Children Born Small for Gestational Age: Analysis of Data from KIGS (Pharmacia International Growth Database). *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:125-131
- 8 Ranke MB, Wilton P (eds): *Growth Hormone Therapy in KIGS: 10 Years' Experience*. Heidelberg, Leipzig, Johann Ambrosius Barth Verlag, 1999
- 9 Tanner JM, Whitehouse RH, Takaishi M: Standards from birth to maturity for height, height velocity and weight velocity: British Children, 1965. Part II. *Arch Dis Child* 1966;41:613-635
- 10 Freeman JV, Cole TJ, Chinn S, Jones PR, White EM, Preece MA: Cross sectional stature and weight reference curves for UK (1990). *Arch Dis Child* 1995;73:17-24
- 11 Niklasson A, Ericson A, Freyer JG, Karlberg J, Lawrence C, Karlberg P: An update of the Swedish reference standards for weight, length and head circumference at birth given gestational age (1977-1981). *Acta Paediatr Scand* 1991;80:746-762
- 12 Ranke MB: Towards a consensus of the definition of idiopathic short stature. *Horm Res* 1996;45:64-66
- 13 Van den Broeck J, Arends N, Hokken-Koelaga A: Growth Response to Recombinant Human Growth Hormone (GH) in Children with Idiopathic Growth

Retardation by Level of Maximum GH Peak during GH Stimulation Tests. *Horm Res* 2000;53:267-273

14 Rona RJ: Genetic and environmental factors in the control of growth in childhood. *Brit Med Bull* 1981;37:265-272

15 Albertsson Wikland K: The effect of human growth hormone injection frequency on linear growth rate. *Acta Paediatr Scand* 1987;337:110-116

Literatura

- Agarwal G, Bhatia V, Cook S, Thomas PQ. Adrenocorticotropin deficiency in combined pituitary hormone deficiency patients homozygous for a novel *PROP1* deletion. *J Clin Endocr Metab* 2000;85:4556-61
- Akinci A, Kanaka C, Eble A, Akar N, Vidinlisan S, Mullis PE. Isolated growth hormone (GH) deficiency type 1A associated with a 45-kilobase gene deletion within the human GH gene cluster. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:437-41
- Albertsson Wikland K, Kriström B, Rosberg S, Svensson B, Nierop AFM. Validated Multivariate Models Predicting the Growth Response to GH Treatment in Individual Short Children with a Broad Range in GH Secretion Capacities. *Pediatr Res* 2000;48:475-84
- Albertsson Wikland K. The effect of human growth hormone injection frequency on linear growth rate. *Acta Paediatr Scand* 1987;337:110-6
- Argyropoulou M, Perignon F, Brunelle F, Brauner R, Rappaport R (1991) Height of normal pituitary gland as a function of age evaluated by magnetic resonance imaging in children. *Pediatr Radiol* 21:247-9
- Arroyo A, Pernasetti F, Vasilyev VV, Amato P, Yen SS, Mellon PL. A unique case of combined pituitary hormone deficiency caused by a *PROP1* gene mutation (R120C) associated with normal height and absent puberty. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2002;57:283-91
- Arslanian SA, Rothfus WE, Foley TP Jr, Becker DJ (1984) Hormonal, metabolic, and neuroradiologic abnormalities associated with septo-optic dysplasia. *Acta Endocrinol (Copenh)* 107:282-8
- Baker LL, Barkovich AJ (1992) The large temporal horn: MR analysis in developmental brain anomalies versus hydrocephalus. *Am J Neuroradiol* 13:115-22
- Barkovich AJ, Fram EK, Norman K. Septo-optic dysplasia: MR imaging. *Radiology* 1989;171:189-92
- Bauman G. Growth hormone heterogeneity: genes, isohormones, variants, and binding proteins. *Endocr Rev* 1991;12:424-49

- Birkebaek NH, Patel L, Wright NB, Grigg JR, Sinha S, Hall CM, Price DA, Lloyd IC, Clayton PE (2003) Endocrine status in patients with optic nerve hypoplasia: relationship to midline central nervous system abnormalities and appearance of the hypothalamic-pituitary axis on magnetic resonance imaging. *J Clin Endocrinol Metab* 88:5281–6
- Bláha P, Lhotská L, Vignerová J, Bošková R. 5th Nation-wide survey of children and adolescents in 1991 (Czech Republic) – selected anthropometric characteristics. *Cesko-Slovenska Pediatrie* 1993;48:621-30
- Blethen SL, Compton P, Lippe BM, Rosenfeld RG, Augustus GP, Johanson A. Factors predicting the response to growth hormone (GH) therapy in prepubertal children with GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:574-9
- Bodner M, Castrillo JL, Theill LE, Deerinck T, Ellisman M & Karin M. The pituitary-specific transcription factor GHF-1 is a homeobox-containing protein. *Cell* 1988;55:505-18
- Böttner A, Keller E, Kratzsch J, Stobbe H, Weigel JFW, Keller A, Hirsch W, Kiess W, Blum WF, Pfaeffle RW. *PROP1* mutations cause progressive deterioration of anterior pituitary function including adrenal insufficiency: A longitudinal analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:5256-65
- Brodsky MC, Conte FA, Taylor D, Hoyt CS, Mrak RE (1997) Sudden death in septo-optic dysplasia. Report of 5 cases. *Arch Ophthalmol* 115:66–70
- Brodsky MC, Glasier CM. Clinical Significance of Associated Central Nervous System Abnormalities on Magnetic Resonance Imaging. *Arch Ophthalmol* 1993;111:66-74
- Brodsky WJ, Griebel M, Glasier CM, Caldwell D, Thomas P. Septo-optic dysplasia: the clinical insignificance of an absent septum pellucidum. *Dev Med Child Neurol* 1993;35:490-501
- Brunnerová R, Krásný J, Lebl J, Al Taji E, Vosáhlo J. Variabilita septo-optické dysplázie. *Folia strabologica et neuroophthalmologica* 2002;5(suppl):59-61
- Cameron FJ, Khadilkar VV, Stanhope R (1999) Pituitary dysfunction, morbidity and mortality with congenital midline malformation of the cerebrum. *Eur J Pediatr* 158:97–102

- Carvalho LR, Woods KS, Mendonca BB, Marcal N, Zamparini AL, Stifani S, Brickman JM, Arnhold IJP, Dattani MT. A homozygous mutation in *HESX1* is associated with evolving hypopituitarism due to impaired repressor-corepressor interaction. *J Clin Invest* 2003;112:1192-201
- Chen EY, Liao YC, Smith DH, Barrera-Saldana HA, Gelinas RE, Seeburg PH. The human growth hormone locus: nucleotide sequence, biology, and evolution. *Genomics* 1989;4:479-97
- Chen S, Léger J, Garel C, Hassan M, Czernichow P (1999) Growth hormone deficiency with ectopic neurohypophysis: anatomical variations and relationship between the visibility of the pituitary stalk asserted by magnetic resonance imaging and anterior pituitary function. *J Clin Endocrinol Metab* 84:2408–13
- Cogan JD, Phillips JA 3rd, Sakati N, Frisch H, Schober E, Milner RD. Heterogeneous growth hormone (GH) gene mutations in familial GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:1224-8
- Cogan JD, Ramel B, Lehto M. A recurring dominant negative mutation causes autosomal dominant growth hormone deficiency - a clinical research study. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:3591-5
- Cogan JD, Wu W, Phillips JA 3rd, Arnhold IJP, Agapito A, Fofanova OV, Osorio MGF, Bircan I, Moreno A, Mendonca BB. The *PROP1* 2-base pair deletion is a common cause of combined pituitary hormone deficiency. *J Clin Endocr Metab* 1998;83:3346-9
- Crone J, Pfäffle R, Stobbe H, Prayer D, Gomez I, Frisch H. Familial combined pituitary hormone deficiency caused by PROP-1 gene mutation. *Hormone Research* 2002;57:120-6
- Dattani MT, Martinez-Barbera JP, Thomas PQ, Brickman JM, Gupta R, Wales JKH, Hindmarsh PC, Beddington RSP, Robinson ICAF. Molecular Genetics of Septo-Optic Dysplasia. *Horm Res* 2000;53(Suppl 1):26-33
- Dattani MT, Martinez-Barbera JP, Thomas PQ, Brickman JM, Gupta R, Martensson IL, Toresson H, Fox M, Wales JKH, Hindmarsh PC, Krauss S, Beddington RSP, Robinson ICAF. Mutations in the homeobox gene *HESX1/HESX1* associated with septo-optic dysplasia in human and mouse. *Nature Genet* 1998;19:125-33

- Dattani MT. Novel insights into the aetiology and pathogenesis of hypopituitarism. *Horm Res* 2004;62(suppl 3):1-13
- Davis GC, Shock JP. Septo-optic dysplasia associated with see-saw nystagmus. *Arch Ophthalmol* 1975;93:137-9
- de Morsier G. Etudes sur les dysraphies craniocéphaliques. III. Agénésie du septum pelucidum avec malformation du tractus optique: la dysplasie septo-optique. *Schweiz Arch Neurol Psychiatr* 1956;77:267-92
- Dominguez R, Aguirre Vila-Coro A, Slopis JM, Bohan TP (1991) Brain and ocular abnormalities in infants with in utero exposure to cocaine and other street drugs. *Am J Dis Child* 145:688–95
- Duquesnoy P, Amselem S, Gourmelen M, Le Bouc Y, Goossens M. A frameshift mutation causing isolated growth hormone deficiency type 1A. *Am J Hum Genet* 1990;47:A110
- Duquesnoy P, Roy A, Dastot F, Ghali I, Teinturier C, Netchine I, Cacheux V, Hafez M, Salah N, Chaussain JL, Goossens M, Bougneres P, Amselem S. Human Prop-1: cloning, mapping, genomic structure: mutations in familial combined pituitary hormone deficiency. *FEBS Lett* 1998;437:216-20
- Elster AB, McAnarney ER. Maternal age and septo-optic dysplasia. *J Pediatr* 1979;94:162-3
- Fluck C, Deladoey J, Rutishauser K, Eble A, Marti U, Wu W, Mullis, PE. Phenotypic variability in familial combined pituitary hormone deficiency caused by a *PROP1* gene mutation resulting in the substitution of arg to cys at codon 120 (R120C). *J Clin Endocr Metab* 1998;83:3727-34
- Fofanova O, Takamura N, Kinoshita E, Parks JS, Brown MR, Peterkova VA, Evgrafov OV, Goncharov NP, Bulatov AA, Dedov II, Yamashita S. Compound heterozygous deletion of the PROP-1 gene in children with combined pituitary hormone deficiency. *J Clin Endocr Metab* 1998;83:2601-4
- Fofanova O, Takamura N, Konoshita E. MR imaging of the pituitary gland in children and young adults with congenital combined pituitary hormone deficiency associated with *PROP1* mutations. *Am J Radiol* 2000;174:555-9

- Freeman JV, Cole TJ, Chinn S, Jones PR, White EM, Preece MA. Cross sectional stature and weight reference curves for UK (1990). *Arch Dis Child* 1995;73:17-24
- Freude S, Frisch H, Wimberger D, Schober E, Haeusler G, Waldhauser F, Aichner F. Septo-optic dysplasia and growth hormone deficiency: accelerated pubertal maturation during GH therapy. *Acta Paediatr* 1992;81:641-5
- Gaylinn BD, Harrison JK, Zysk JR, Lyons CE, Lynch KR, Thorner MO. Molecular cloning and expression of human anterior pituitary receptor for growth hormone-releasing hormone. *Mol Endocrinol* 1993;7:77-84
- Gaylinn BD. Molecular and cell biology of the growth hormone-releasing hormone receptor. *Growth Horm IGF Res* 1999;9(suppl A):37-44
- Glaser JS. Topical Diagnosis: Prechiasmal Visual Pathways. In: Tasman and Jaeger: *Duane's Ophthalmology on CD-ROM*. Lippincott-Raven Publ, 1998, Volume 2, Chapter 5
- Greulich WW, Pyle SI. Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist. Stanford: Stanford University Press 1959
- Hanna CE, LaFranchi SH. Evolving hypopituitarism in children with central nervous system lesions. *Pediatrics* 1983;72:65-70
- Hanna CE, Mandel SH, LaFranchi SH. Puberty in the syndrome of septo-optic dysplasia. *Am J Dis Child* 1989;143:186-9
- Hellstroem A, Aronsson M, Axelson C, Kyllerman M, Kopp S, Steffenburg S, Stroemland K, Westphal O, Winklund L-M, Winkland KA. Children with Septo-Optic Dysplasia - How to Improve and Sharpen the Diagnosis. *Horm Res* 2000;53(Suppl 1):19-25
- Hendriks-Stegeman BI, Augustijn KD, Bakker B, Holthuisen P, van der Vliet PC, Jansen M. Combined pituitary hormone deficiency caused by compound heterozygosity for two novel mutations in the POU domain of the *PIT1/POU1F1* gene. *J Clin Endocr Metab* 2001;86:1545-50
- Hoyt WF, Kaplan SL, Grumbach MM, Glaser JS. Septo-optic dysplasia and pituitary dwarfism. *Lancet* 1970;1:893-4

- Illig R. Growth hormone antibodies in patients treated with different preparations of human growth hormone (HGH). *J Clin Endocrinol Metab* 1970;31:679-88
- Izenberg N, Rosenblum M, Parks JS. The endocrine spectrum of septo-optic dysplasia. *Clin Pediatr (Phila)* 1984;23:632-6
- Kaplan SL, Grumbach MM, Hoyt WF. A syndrome of hypopituitary dwarfism, hypoplasia of optic nerves, and malformation of prosencephalon: report of 6 patients. *Pediatr Res* 1970;4:480-1
- Kier EL, Kim JH, Fulbright RK, Bronen RA (1997) Embryology of the human fetal hippocampus: MR imaging, anatomy, and histology. *Am J Neuroradiol* 18:525–32
- Lacey KA, Parkin JM. Causes of short stature. A community study of children in Newcastle upon Tyne. *Lancet* 1974;1:42-5
- Lazar L, Gat-Yablonski G, Kornreich L, Pertzalan A, Phillip M. PROP-1 gene mutation (R120C) causing combined pituitary hormone deficiencies with variable clinical course in eight siblings of one Jewish Moroccan family. *Hormone Research* 2003;60:227-31
- Levine LM, Bhatti MT, Manusco AA. Septo-optic dysplasia with olfactory tract and bulb hypoplasia. *J AAPOS* 2001;5:398-9
- Li S, Crenshaw EB 3rd, Rawson EJ, Simmons DM, Swanson LW, Rosenfeld MG. Dwarf locus mutants lacking three pituitary cell types result from mutations in the POU-domain gene Pit-1. *Nature* 1990;347:528-33
- Lubinsky MS. Association of prenatal vascular disruptions with decreased maternal age. *Am J Med Genet* 1997;69:237–9
- Lubinsky MS. Hypothesis: Septo-Optic Dysplasia Is a Vascular Disruption Sequence. *Am J Med Genet* 1997;69:235-6
- Machinis K, Pantel J, Netchine I, Leger J, Camand OJA, Sobrier ML, Dastot-Le Moal F, Duquesnoy P, Abitbol M, Czernichow P, Amselem S. Syndromic short stature in patients with a germline mutation in the LIM homeobox *LHX4*. *American Journal of Human Genetics* 2001;69:961-8
- Maheshwari HG, Silverman BL, Dupuis J, Baumann G. Phenotype and genetic analysis of a syndrome caused by an inactivating mutation in the

- growth hormone-releasing hormone receptor: dwarfism of Sindh. *J Clin Endocr Metab* 1998;83:4065-74
- Margalith D, Jan JE, McCormick AQ, Tze WJ, Lapointe J (1984) Clinical spectrum of congenital optic nerve hypoplasia: review of 51 patients. *Dev Med Child Neurol* 26:311–22
 - Masera N, Grant DB, Stanhope R, Preece MA. Diabetes insipidus with impaired osmotic regulation in septo-optic dysplasia and agenesis of the corpus callosum. *Arch Dis Child* 1994;70:51-3
 - Mendonca BB, Osorio MG, Latronico AC, Estefan V, Lo LS, Arnhold IJ. Longitudinal hormonal and pituitary imaging changes in two females with combined pituitary hormone deficiency due to deletion of A301, G302 in the *PROP1* gene. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:942-5
 - Miller SA et al. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Research* 1988;85:1215
 - Miller SP, Shevell MI, Patenaude MD, Poulin C, O’Gorman AM. Septo-optic dysplasia plus: A spectrum of malformations of cortical development. *Neurology* 2000;54:1701-3
 - Missarelli C, Herrera L, Mericq V, Carvallo P. Two different 5’ splice site mutations in the growth hormone gene causing autosomal dominant growth hormone deficiency. *Hum Genet* 1997;101:113-7
 - Morishima A, Aranoff GS. Syndrome of septo-optic-pituitary dysplasia: The clinical spectrum. *Brain Dev* 1986;8:233-9
 - Murray PG, Paterson WF, Donaldson MD (2005) Maternal age in patients with septo-optic dysplasia. *J Pediatr Endocrinol Metab* 18:471–6
 - Nanduri VR, Stanhope R. Why is the retention of gonadotrophin secretion common in children with panhypopituitarism due to septo-optic dysplasia? *Europ J Endocrinol* 1999;140:48-50
 - Netchine I, Sobrier ML, Krude H, Schnabel D, Maghnie M, Marcos E, Duriez B, Cacheux V, von Moers A, Goossens M, Gruters A, Amselem S. Mutations in *LHX3* result in a new syndrome revealed by combined pituitary hormone deficiency. *Nature Genetics* 2000;25:182-6
 - Netchine I, Talon P, Dastot F, Vitaux F, Goossens M, Amselem S. Extensive phenotypic analysis of a family with growth hormone (GH)

- deficiency caused by a mutation in the GH-releasing hormone receptor gene. *J Clin Endocr Metab* 1998;83:432-4
- Niklasson A, Ericson A, Freyer JG, Karlberg J, Lawrence C, Karlberg P. An update of the Swedish reference standards for weight, length and head circumference at birth given gestational age (1977-1981). *Acta Paediatr Scand* 1991;80:746-62
 - Nuri Seren R. Septo-optic dysplasia (de Morsier's syndrome) associated with total callosal absence. A new type of the anomaly. *J Neuroradiol* 1996;23(2):79-81
 - Nuri Seren R. Septo-optic dysplasia associated with cerebral cortical dysplasia (cortico-septo-optic dysplasia). *J Neuroradiol* 1996;23(4):245-7
 - Ohta K, Nobukuni Y, Mitsubuchi H, Fujimoto S, Matsuo N, Inagaki H, Endo F, Matsuda I. Mutations in the PIT-1 gene in children with combined pituitary hormone deficiency. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;189:851-5
 - Ohta K, Nobukuni Y, Mitsubuchi H, Ohta T, Tohma T, Jinno Y, Endo F, Matsuda I. Characterization of the gene encoding human pituitary-specific transcription factor, Pit-1. *Gene* 1992;122:387-8
 - Osorio MGF, Kopp P, Marui S, Latronico AC, Mendonca BB, Arnhold IJP. Combined pituitary hormone deficiency caused by a novel mutation of a highly conserved residue (F88S) in the homeodomain of PROP-1. *J Clin Endocr Metab* 2000;85:2779-85
 - Otradovec J. Choroby očníce. Praha, Avicenum 1986:24
 - Pagon RA, Spaeth GL. Congenital Malformation of the Eye. In: Tasman and Jaeger: *Duane's Ophthalmology on CD-ROM*. Lippincott-Raven Publ, 1998, Volume 1, Chapter 40
 - Pavel ME, Hensen J, Pfäffle R, Hahn EG, Dörr HG. Long-term follow-up of childhood-onset hypopituitarism in patients with the PROP-1 gene mutation. *Hormone Research* 2003;60:168-73
 - Pernasetti F, Toledo SPA, Vyacheslav VV. Impaired adrenocorticotropin-adrenal axis in combined pituitary hormone deficiency caused by two-base pair deletion (301-302delAG) in the Prophet of Pit-1 gene. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;83:390-7

- Pfaffle RW, DiMattia GE, Parks JS, Brown MR, Wit JM, Jansen M, Van der Nat H, Van den Brande JL, Rosenfeld MG, Ingraham HA. Mutation of the POU-specific domain of Pit-1 and hypopituitarism without pituitary hypoplasia. *Science* 1992;257:1118-21
- Phillips JA 3rd, Cogan JD. Genetic basis of endocrine disease 6: molecular basis of familial human growth hormone deficiency. *J Clin Endocr Metab* 1994;78:11-6
- Prayer D, Kasprian G, Krampfl E, Ulm B, Witzani L, Prayer L, Brugger PC (2006) MRI of normal fetal brain development. *Eur J Radiol* 57:199–216
- Raben MS: Treatment of a pituitary dwarf with human growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1958;18:901-3
- Radovick S, Nations M, Du Y, Berg LA, Weintraub BD, Wondisford FE. A mutation in the POU-homeodomain of Pit-1 responsible for combined pituitary hormone deficiency. *Science* 1992;257:1115-8
- Rainbow LA, Rees SA, Shaikh MG, Shaw NJ, Cole T, Barrett TG, Kirk JM (2005) Mutation analysis of POUF-1, PROP-1 and HESX-1 show low frequency of mutations in children with sporadic forms of combined pituitary hormone deficiency and septo-optic dysplasia. *Clin Endocrinol (Oxf)* 62:163–8
- Ranke MB, Lindberg A, Chatelain P, Wilton P, Cutfield W, Albertsson-Wikland K, Price DA. Derivation and Validation of a Mathematical Model for Predicting the Response to Exogenous Recombinant Human Growth Hormone (GH) in Prepubertal Children with Idiopathic GH Deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:1174-83
- Ranke MB, Lindberg A, Chatelain P, Wilton P, Cutfield W, Albertsson-Wikland K, Price DA. Prediction of Long-term Response to Recombinant Human Growth Hormone in Turner Syndrome: Development and Validation of Mathematical Models. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4212-8
- Ranke MB, Lindberg A, Cowell CT, Albertsson-Wikland K, Reiter EO, Wilton P, Price DA. Prediction of Response to Growth Hormone Treatment in Short Children Born Small for Gestational Age: Analysis of Data from KIGS (Pharmacia International Growth Database). *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:125-31

- Ranke MB, Savage MO, Chatelain PG, Preece MA, Rosenfeld RG, Blum WF, Wilton P. Insulin-like growth factor I improves height in growth hormone insensitivity: Two years' results. *Horm Research* 1995;44:253-64
- Ranke MB, Wilton P. Growth Hormone Therapy in KIGS: 10 Years' Experience. Heidelberg, Leipzig, Johann Ambrosius Barth Verlag, 1999
- Ranke MB. Towards a consensus of the definition of idiopathic short stature. *Horm Res* 1996;45:64-6
- Reeves DL. Congenital absence of septum pellucidum. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1941;69:61-71
- Riedl SW, Mullner-Eidenböck A, Prayer D, Bernert G, Frisch H (2002) Auxological, ophthalmological, neurological and MRI findings in 25 Austrian patients with septo-optic dysplasia (SOD). Preliminary data. *Horm Res* 58(Suppl 3):16–19
- Riepe FG, Partsch CJ, Blankenstein O, Monig H, Pfaffle RW, Sippell WG. Longitudinal imaging reveals pituitary enlargement preceding hypoplasia in two brothers with combined pituitary hormone deficiency attributable to *PROP1* mutation. *J Clin Endocr Metab* 2001;86:4353-7
- Rona RJ. Genetic and environmental factors in the control of growth in childhood. *Brit Med Bull* 1981;37:265-72
- Rosenbloom AL, Almonte AS, Brown MR, Fisher DA, Baumbach L, Parks JS. Clinical and biochemical phenotype of familial anterior hypopituitarism from mutation of the *PROP1* gene. *J Clin Endocr Metab* 1999;84:50-7
- Salvatori R, Fan X, Mullis PE, Haile A, Levine MA. Decreased expression of the GHRH receptor gene due to a mutation in a Pit-1 binding site. *Molec Endocr* 2002;16:450-8
- Salvatori R, Hayashida CY, Aguiar-Oliveira MH, Phillips JA 3rd, Souza AHO, Gondo RG, Toledo SPA, Conceicao MM, Prince M, Maheshwari HG, Baumann G, Levine MA. Familial dwarfism due to a novel mutation of the growth hormone-releasing hormone receptor gene. *J Clin Endocr Metab* 1999;84:917-23

- Sato N, Hatakeyama S, Shimizu N, Hikima A, Aoki J, Endo K (2001) MR evaluation of the hippocampus in patients with congenital malformations of the brain. *Am J Neuroradiol* 22:389–93
- Savage MO, Blum WF, Ranke MB, Postelvinay MC, Cotterill AM, Hall K, Chatelain PG, Preece MA, Rosenfeld RG. Clinical features and endocrine status in patients with growth hormone insensitivity (Laron syndrome). *J Clin Endocr Metab* 1993;77:1465-71
- Schoenau E, Westermann F, Rauch F, Stabrey A, Wassmer G, Keller E, Brämswig J, Blum WF. A new and accurate model for growth response to growth hormone treatment in children with growth hormone deficiency. *European Journal of Endocrinology* 2001;144:13-20
- Siatkowski RM, Sanchez JC, Andrade R, Alvarez A (1997) The clinical, neuroradiographic, and endocrinologic profile of patients with bilateral optic nerve hypoplasia. *Ophthalmology* 104:493–6
- Sorkin JA, Davis PC, Meacham LR, Parks JS, Drack AV, Lambert SR (1996) Optic nerve hypoplasia: absence of posterior pituitary bright signal on magnetic resonance imaging correlates with diabetes insipidus. *Am J Ophthalmol* 122:717–23
- Sornson MW, Wu W, Dasen JS, Flynn SE, Norman DJ, O'Connell SM, Gukovsky I, Carriere C, Ryan AK, Miller AP, Zuo L, Gliberman AS, Andersen B, Beamer WG, Rosenfeld MG. Pituitary lineage determination by the Prophet of Pit-1 homeodomain factor defective in Ames dwarfism. *Nature* 1996;384:327-33
- Stanhope R, Preece MA, Brook CGD. Hypoplastic optic nerves and pituitary dysfunction. A spectrum of anatomic and endocrine abnormalities. *Arch Dis Child* 1984;59:111-4
- Tajima T, Hattori T, Nakajima T, Okuhara K, Sato K, Abe S, Nakae J, Fujieda K. Sporadic heterozygous frameshift mutation of *HESX1* causing pituitary and optic nerve hypoplasia and combined pituitary hormone deficiency in a Japanese patient. *J Clin Endocr Metab* 2003;88:45-50
- Takahashi Y, Kaji H, Okimura Y, Goji K, Abe H, Chihara K. Brief report: short stature caused by a mutant growth hormone. *N Engl J Med* 1996;334:432-6

- Tanner JM, Whitehouse RH, Takaishi M. Standards from birth to maturity for height, height velocity and weight velocity: British Children, 1965. Part II. Arch Dis Child 1966;41:613-35
- Tatsumi K, Miyai K, Notomi T, Kaibe K, Amino N, Mizuno Y, Kohno H. Cretinism with combined hormone deficiency caused by a mutation in the PIT1 gene. Nature Genet 1992;1:56-8
- Techini L. Un caso assenza completa del setto lucido in un bambino di anni due e mezzo colla integrita della funzioni intellectuase. Bollentino Scientifico 1880;2:65
- Thomas PQ, Dattani MT, Brickman JM, McNay D, Warne G, Zacharin M, Cameron F, Hurst J, Woods K, Dunger D, Stanhope R, Forrest S, Robinson ICAF, Beddington RSP. Heterozygous *HESX1* mutations associated with isolated congenital pituitary hypoplasia and septo-optic dysplasia. Hum Molec Genet 2001;10:39-45
- Traggiai C, Stanhope R. Endocrinopathies associated with midline cerebral and cranial malformations. J Pediatr 2002;140:252-5
- Van den Broeck J, Arends N, Hokken-Koelaga A: Growth Response to Recombinant Human Growth Hormone (GH) in Children with Idiopathic Growth Retardation by Level of Maximum GH Peak during GH Stimulation Tests. Horm Res 2000;53:267-73
- Vimpani GV, Vimpani AF, Lidgard GP, Cameron EH, Farquhar JW. Prevalence of severe growth hormone deficiency. Br Med J 1977;2:427-30
- Vosáhlo J, Kolská M, Lebl J. Neobvyklý případ septo-optické dysplázie. Kasuistika. Čes-slov Pediatr 2001;56:660-2
- Voutetakis A, Argyropoulou M, Sertedaki A, Livadas S, Xekouki P, Maniati-Christidi M, Bossis I, Thalassinos N, Patronas N, Dacou-Voutetakis C. Pituitary magnetic resonance imaging in 15 patients with *PROP1* gene mutations: Pituitary enlargement may originate from the intermediate lobe. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 2004;89:2200-6
- Wagner JK, Eble A, Hindmarsh PC, Mullis PE. Prevalence of human *GH1* gene alterations in patients with isolated growth hormone deficiency. Pediatr Res 1998;43:105-10

- Wajnrajch MP, Gertner JM, Harbison MD, Chua SC Jr, Leibel RL. Nonsense mutation in the human growth hormone-releasing hormone receptor causes growth failure analogous to the little (lit) mouse. *Nature Genet* 1996;12:88-90
- Walton DS, Robb RM. Optic nerve hypoplasia: a report of 20 cases. *Arch Ophthalmol*;84:572-6
- Willnow S, Kiess W, Butenandt O, Doerr HG, Enders A, Strasser-Vogel B, Egger J, Schwarz HP. Endocrine disorders in septo-optic dysplasia (De Morsier syndrome) - evaluation and follow up of 18 patients. *Eur J Pediatr* 1996;155:179-84
- Wu W, Cogan JD, Pfaffle RW, Dasen JS, Frisch H, O'Connell SM, Flynn SE, Brown MR, Mullis PE, Parks JS, Phillips JA 3rd, Rosenfeld MG. Mutations in *PROP1* cause familial combined pituitary hormone deficiency. *Nature Genet* 1988;18:147-9
- Yukizane S, Kimura Y, Yamashita Y, Matsuishi T, Horikawa H, Ando H, Yamashita F. Growth hormone deficiency of hypothalamic origin in septo-optic dysplasia. *Eur J Pediatr* 1990;150:30-3

Publikační činnost

Články s impakt faktorem

- Vosahlo J, Zidek T, Lebl J, Riedl S, Frisch H. Validation of a mathematical model predicting the response to growth hormone treatment in prepubertal children with idiopathic growth hormone deficiency. *Horm Res* 2004(61);3:143-7
- Lebl J, Vosahlo J, Pfaeffle RW, Stobbe H, Cerna J, Novotna D, Zapletalova J, Kalvachova B, Hana V, Weiss V, Blum WF. Auxological and endocrine phenotype in a population-based cohort of patients with PROP1 gene defects. *Eur J Endocrinol* 2005;153:389-96
- Riedl S, Vosahlo J, Batellino T, Stirn-Kranjc B, Brugger PC, Prayer D, Müllner-Eidenböck A, Kapelari K, Blümel P, Waldhör T, Krasny J, Lebl J, Frisch H. Refining clinical phenotypes in septo-optic dysplasia based on MRI findings *Eur J Pediatr*. DOI 10.1007/s00431-007-0666-x
- Nucci AM, Bectler DM, Virtanen SM, Cuthbertson D, Softness B, Huot C, Wasikowa R, Dosch HM, Akerblom HK, Knip M, TRIGR Study Group. Growth Differences between North American and European children at risk for type 1 diabetes. *Pediatr diabetes* 2012;13(5):425-31

Další články

- Vosáhlo J, Kolská M, Lebl J. Neobvyklý případ septo-optické dysplázie. *Čes.-slov. Pediatr.* 2001(56);11:660-2
- Vosáhlo J, Krásný J, Srp A, Brunnerová R, Lebl J. Septo-optická dysplázie: méně obvyklá příčina hypopituitarismu. *DMEV* 2002(5);4:237-42
- Vosáhlo J, Krásný J, Srp A, Brunnerová R, Lebl J. Septo-optická dysplázie: morfologické, oftalmologické a endokrinní nálezy u 11 pacientů. *Čes.-slov. Pediatr.* 2003(58);5:287-90
- Vosáhlo J, Srp A, Pfaeffle RW, Stobbe H, Novotná D, Zapletalová J, Černá J, Kalvachová B, Weiss V, Hána V, Lebl J. Morfologie hypofýzy u pacientů s kombinovaným deficitem pituitárních hormonů na podkladě mutace v PROP1 genu. *Čes.-slov. Pediatr.* 2005(60);6:338-44

- Krásný J, Brunnerová R, Průhová S, Treslová L, Dittertová L, Vosáhlo J, Andel M, Lebl J. Test kontrastní senzitivity v časně detekci očních změn u dětí, dospívajících a mladých dospělých s diabetem mellitem 1. typu. Česk.-Slov. Oftalmol. 2006;62(6):381-94
- Brunerová L, Trešlová L, Průhová Š, Vosáhlo J, Brož J, Lebl J, Anděl M. Glibenklamid místo inzulínu: nová šance pro pacienty s MODY 3 typem diabetu (kazuistika). Vnitř. Lék. 2006;52(3):275-9

Kapitoly v monografiích

- Vosáhlo J, Krásný J, Srp A. Septo-optická dysplázie. In: Lebl J, Šnajderová M, Novotná D. Kasuistiky z dětské endokrinologie. Praha, Galén 2001: 25-6
- Vosáhlo J, Srp A, Krásný J. Septo-optická dysplázie. In: Lebl J, et al. Dětská endokrinologie. Praha, Galén 2004:81-9

Publikovaná abstrakta

- Vosáhlo J, Kolská M, Lebl J. Diabetes insipidus u chlapce s vrozenou anomálií CNS. DMEV 2001(4);Suppl 3:47. Konference: XXIV. endokrinologické dny s mezinárodní účastí, Hradec Králové, 2001
- Lebl J, Průhová Š, Rákosníková V, Al Taji E, Vosáhlo J. Diagnostic evaluation in a child with mild/moderate hyperglycaemia. Slovenska Pediatrija 2001(8);3:66. Konference: 8th MEWPE, Bled, Slovinsko, 2001
- Brunnerová R, Krásný J, Lebl J, Al Taji E, Vosáhlo J. Variabilita septo-optické dysplázie. Folia strabologica et neuroophthalmologica 2002(5);Suppl 1:59-61. Konference: V. symposium dětské oftalmologie, Litomyšl, 2002
- Vosáhlo J, Pfaeffle R, Lebl J. Deficit růstového hormonu - genotypově-fenotypová analýza českých pacientů: In: Vědecká konference 3. LF UK. Praha, 3. LF UK 2002:38. Konference: Vědecká konference 3. LF UK, Praha, 2002
- Lebl J, Hníková O, Hejčmanová L, Votava F, Průhová Š, Čiháková D, Vosáhlo J, Al Taji E, Ploranská L, Strnadová K, Rákosníková V. Dětská endokrinologie a metabolismus: Klinické a molekulárně - genetické projekty

- řešené v roce 2002 na Klinice dětí a dorostu. In: Vědecká konference 3. LF UK. Praha, 3. LF UK 2002:19. Konference: Vědecká konference 3. LF UK, Praha, 2002
- Vosáhlo J, Průhová Š, Ek J, Hansen T, Pedersen O, Lebl J. MODY 2 - Benigní familiární hyperglykémie: Rodina s novou mutací Glu268Stop genu pro glukokinázu (MODY2). DMEV 2002(5);Suppl 1:60. Konference: XXXVIII. diabetologické dny, Luhačovice, 2002
 - Lebl J, Průhová Š, Rákosníková V, Al Taji E, Vosáhlo J. Diferenciální diagnostika hyperglykémie u dětí a adolescentů. DMEV 2002(5);Suppl 1:32-3. Konference: XXXVIII. diabetologické dny, Luhačovice, 2002
 - Vosáhlo J, Průhová Š, Ek J, Hansen T, Pedersen O. MODY 2 - Kasuistika rodiny s novou mutací Glu268Stop genu pro glukokinázu. In: V. Český pediatrický kongres s mezinárodní účastí. Ústí nad Labem, Bos. org. 2002:131. Konference: V. Český pediatrický kongres s mezinárodní účastí, Teplice, 2002
 - Lebl J, Průhová Š, Rákosníková V, Pazdírková R, Vosáhlo J. Heterogenita diabetu mellitu v dětském věku. In: V. Český pediatrický kongres s mezinárodní účastí. Ústí nad Labem, Bos. org. 2002: 126. Konference: V. Český pediatrický kongres s mezinárodní účastí, Teplice, 2002
 - Rákosníková V, Al Taji E, Průhová Š, Mokroš P, Bartošová J, Dvořáčková M, Vosáhlo J, Lebl J. Diabetes mellitus 2. typu u mladistvých s obezitou. In: V. Český pediatrický kongres s mezinárodní účastí. Ústí nad Labem, Bos. org. 2002:139. Konference: V. Český pediatrický kongres s mezinárodní účastí, Teplice 2002
 - Vosáhlo J, Zidek T, Frisch H, Lebl J. Validation of growth predicting models for prepubertal children with idiopathic growth hormone deficiency. Endocrine Regulations 2002(36);4:170. Konference: 9th Middle European Workshop on Paediatric Endocrinology, Piešťany, Slovensko, 2002
 - Lebl J, Průhová Š, Al Taji E, Vosáhlo J. Final height in Turner syndrome: ten years after. Endocrine Regulations 2002(36);4:171-2. Konference: 9th Middle European Workshop on Paediatric Endocrinology, Piešťany, Slovensko, 2002

- Vosáhlo J, Pfaeffle RW, Stobbe H, Lebl J a Pracovní skupina pro růstový hormon CES. Genové defekty u českých pacientů s deficitem růstového hormonu: Výsledky národní studie. DMEV 2003(6);Suppl 2:27. Konference: XXVI. endokrinologické dny s mezinárodní účastí, Liberec, 2003
- Lebl J, Průhová Š, Taji E, Vosáhlo J, Čiháková D. Jak transkripční faktory pomáhají porozumět endokrinním onemocněním u našich pacientů. DMEV 2003(6);Suppl 2:26-7. Konference: XXVI. endokrinologické dny s mezinárodní účastí, Liberec, 2003
- Lebl J, Vosáhlo J, Průhová Š, Al Taji E. Životní osudy šesti trpaslíků s mutací PROP1 genu. In: Kasuistiky z dětské endokrinologie II. Olomouc, Pracovní skupina dětské endokrinologie 2003. Konference: Čtvrté setkání Pracovní skupiny dětské endokrinologie ČPS Kasuistiky z dětské endokrinologie II, Olomouc, 2003
- Riedl SW, Brugger PC, Prayer D, Mueller-Eidenbroeck A, Moser E, Vosahlo J, Lebl J, Stirn B, Battelino T, Peyrl A, Bernert G, Frisch H. Heterogeneity of brain midline malformations: proposal for a clinical diagnostic scoring system of septo-optic dysplasia. Hormone Research 2003(60);Suppl 2:158. Konference: 42nd Annual Meeting of the European Society for Paediatric Endocrinology (ESPE), Ljubljana, Slovinsko, 2003
- Vosáhlo J, Pfaeffle RW, Stobbe H, Lebl J a kol. Gene defects in Czech patients with growth hormone deficiency: Results of national study. Slovenska Pediatrija 2003(10);3:187-190. Konference: 10th Workshop of the Middle European Society for Paediatric Endocrinology (MESPE), Köszeg, Hungary, 2003
- Vosáhlo J, Pfaeffle RW, Stobbe H, Lebl J. Gene Defects in Patients with Growth Hormone Deficiency: Results of a Czech National Study. Hormone Research 2004(62);Suppl 2:99. Konference: 43rd Annual Meeting of the European Society for Paediatric Endocrinology (ESPE), Basel, Switzerland, 2004
- Lebl J, Vosahlo J, Pfaeffle RW, Stobbe H, Cerna J, Novotna D, Zapletalova J, Kalvachova B, Hana V, Weiss V. Natural Growth and Response to Growth Hormone Therapy in a Population-Based Cohort of 18 Patients with PROP1 Gene Defect. Hormone Research 2004(62);Suppl 2:160-1.

- Konference: 43rd Annual Meeting of the European Society for Paediatric Endocrinology (ESPE), Basel, Switzerland, 2004
- Vosáhlo J, Pfaeffle RW, Stobbe H, Lebl J, et al. Jak geny pomáhají porozumět našim pacientům: Hypofýza. In: Páté setkání Pracovní skupiny dětské endokrinologie ČPS "50 let české dětské endokrinologie" Abstrakta. České Budějovice, Agentura Leština 2004, Konference: Páté setkání Pracovní skupiny dětské endokrinologie ČPS "50 let české dětské endokrinologie", Jindřichův Hradec, 2004
 - Lebl J, Průhová Š, Al Taji E, Vosáhlo J. Vývoj endokrinních žláz u embrya a fétu. In: Páté setkání Pracovní skupiny dětské endokrinologie ČPS "50 let české dětské endokrinologie" Abstrakta. České Budějovice, Agentura Leština 2004:21. Konference: Páté setkání Pracovní skupiny dětské endokrinologie ČPS "50 let české dětské endokrinologie", Jindřichův Hradec, 2004
 - Lebl J, Vosáhlo J, Pfaeffle RW, et al. Natural Growth and Response to Growth Hormone Therapy in 18 Czech Patients with PROP1 Gene Defect. Slovenska Pediatrija 2004(11);3:95. Konference: 11th Middle European Workshop on Paediatric Endocrinology, Krems, Austria, 2004
 - Vosáhlo J, Kubelková M, Lebl J. Syndrom nejen z učebnic. In: Dny dětské endokrinologie 2005 – Sborník abstrakt, 2005:63. Konference: Dny dětské endokrinologie 2005, Hradec Králové, 2005
 - Lebl J, Vosahlo J, Pfaeffle RW, Stobbe H, Cerna J, Novotna D, Zapletalova J, Kalvachova B, Hana V, Weiss V, Blum WF. Pituitary size in patients with *PROP1* mutations throughout lifespan: From early hyperplasia to late atrophy? Hormone Research 2005(64);Suppl1: Konference: 44th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Endocrinology (ESPE), Lyon, France, 2005
 - Vosahlo J, Pfaeffle RW, Stobbe H, Lebl J and the Workshop on Growth Hormone of the Czech Society for Endocrinology. Gene defects in patients with growth hormone deficiency: Results of a Czech national study. In: Sborník abstrakt - 14th Meeting of Paediatric Research of Central European Countries, 2005: . Konference: 14th Meeting of Paediatric Research of Central European Countries, Praha, 2005

- Vosáhlo J, Srp A, Pfaeffle RW, Stobbe H, Novotná D, Zapletalová J, Černá J, Kalvachová B, Weiss V, Hána V, Lebl J. morfologie hypofýzy u pacientů s kombinovaným deficitem hormonů hypofýzy na podkladě mutace v PROP1 genu. In: Sborník abstrakt - XXVIII. endokrinologické dny s mezinárodní účastí, 2005; 30. Konference: XXVIII. endokrinologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 2005
- Lebl J, Vosahlo J, Pfaeffle RW, Stobbe H, Cerna J, Novotna D, Zapletalova J, Kalvachova B, Hana V, Weiss V, Blum WF. Prevalence of PROP1 Gene Defects in a Population-Based Cohort of Patients with Multiple Pituitary Hormone Deficiency and Their Natural History of Growth and Response to Growth Hormone Treatment. In: Sborník abstrakt – The Endocrine society's 87th annual meeting, 2005:474. Konference. The Endocrine society's 87th annual meeting, 2005
- Vosahlo J, Lebl J, Srp A, Pfaeffle RW, Stobbe H, Frisch H, Cerna J, Novotna D, Zapletalova J, Kalvachova B, Hana V, Weiss V, Blum WF. Pituitary morphology in patients with *PROP1* mutations – changes throughout the life-span. DMEV 2005;Suppl 2:9. Konference: 12th Middle European Workshop on Paediatric Endocrinology, Mikulov, 2005
- Brunerova L, Treslova L, Broz J, Pruhova S, Vosahlo J, Lebl J, Andel M. Glibenclamide instead of insulin – a new chance for patients with MODY3 diabetes (case report). DMEV 2005; Suppl 2:11. Konference: 12th Middle European Workshop on Paediatric Endocrinology, Mikulov, 2005

Prezentace na vědeckých konferencích bez publikovaných abstrakt

- Vosáhlo J, Průhová Š, Ek J, Hansen T, Pedersen O, Lebl J. Kazuistika rodiny s novou mutací GLU286STOP genu pro glukokinazu (MODY 2) Konference: Pracovní dny dětské diabetologie 2001, Karlovy Vary, 2001
- Lebl J, Průhová Š, Rákosníková V, Al Taji E, Vosáhlo J. Diferenciální diagnostika hyperglykemie u dětí Konference: Pracovní dny dětské diabetologie 2001, Karlovy Vary, 2001
- Vosáhlo J, Kolská M, Lebl J. Diabetes insipidus a ztráta pocitu žízně u pacienta s vrozenou anomálií CNS Konference: 2. setkání Pracovní skupiny

dětské endokrinologie ČPS “Kasuistiky z dětské endokrinologie”, Brno, 2001

- Vosáhlo J, Lebl J. Septo-optická dysplázie: morfologické, oftalmologické a endokrinní konsekvence; Dny dětské endokrinologie, Praha, 2002
- Vosáhlo J, Průhová Š, Trešlová L, Brunnerová L, Lebl J. Nové možnosti v léčbě pacientů s MODY diabetem; Pracovní dny dětské diabetologie, Karlovy Vary, 2005
- Vosáhlo J. Kasuistika pacienta s adrenouleukodystrofií – součást kulatého stolu Poruchy funkce nadledvin: genové defekty a naši pacienti, XXVIII. endokrinologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 2005