

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
2. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



Disertační práce

**PENDRIN V PATOGENEZI VROZENÉ
NEDOSTATEČNOSTI ŠTÍTNÉ ŽLÁZY**

Dr.med.univ. KAROLÍNA BANGHOVÁ

Praha 2008

Doktorské studijní programy v biomedicině

Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky

Oborová rada: Fyziologie a patofyziologie člověka

Školící pracoviště: Pediatrická klinika UK – 2. LF a FN v Motole

Autor:

Dr.med.univ. Karolína Banghová

Adresa pracoviště autora:

Pediatrická klinika UK - 2. LF a FN v Motole

V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

tel.: + 420 224 432 090

fax: + 420 224 432 020

e-mail: k_banghova@yahoo.com

Školitel:

Prof. MUDr. Jan Lebl, CSc.

Adresa pracoviště školitele:

Pediatrická klinika UK - 2. LF a FN v Motole

V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Školitel – konzultant:

MUDr. Ondřej Cinek, Ph.D.

Poděkování

Děkuji svému školiteli Prof. MUDr. Janu Leblovi, CSc., za profesionální vedení po celou dobu projektu. Děkuji svému školiteli – konzultantovi MUDr. Ondřejovi Cinkovi, Ph.D., za vedení laboratorní části projektu a za pomoc při studii metod molekulární genetiky. Také děkuji MUDr. Evě Al Taji za pomoc při přípravě projektu a při sběru pacientů.

Děkuji všem lékařům, kteří se podíleli na vytváření DNA banky kongenitální hypotyreózy a fenotypizaci pacientů, jmenovitě MUDr. Liborovi Černému, prof. MUDr. Janu Čápovi, CSc., MUDr. Marii Finkové, MUDr. Radanovi Havlíkovi, prof. MUDr. Olze Hníkové, CSc., MUDr. Vlastě Janštové, MUDr. Jarmile Klabochové, MUDr. Márii Kúsekové, MUDr. Evě Novákové, MUDr. Daně Novotné, MUDr. Renatě Pomahačové, MUDr. Michalovi Škáchovi, MUDr. Jaroslavu Škvorovi, CSc., MUDr. Heleně Vávrové, MUDr. Jitřence Venháčové, MUDr. Radanovi Vidurovi, Ph.D., doc. MUDr. Jiřině Zapletalové, Ph.D. a MUDr. Jaroslavu Zikmundovi, CSc.

Studie byla podpořena Grantem Univerzity Karlovy GAUK 2008/2007 a výzkumným záměrem Ministerstva školství mládeže a tělovýchovy VZ MSM 0021620814.

Obsah

Anotace	8
Úvod do problému	8
Vědecké otázky	8
Hypotéza	9
Úvod do problému	10
Úvod do problému – článek I: Pendrin a jeho úloha v patogenezi kongenitální hypotyreózy a dalších onemocnění	13
Souhrn	14
Summary	15
Pendrin, jeho orgánová exprese a funkce	16
Fenotypické projevy defektu genu pro pendrin	19
1. Pendredův syndrom	19
2. DFNB4	21
3. EVA	21
Molekulární genetika	22
Závěr	24
Literatura	27
Studie, část 1 – úvod: Genetická studie Pendredova syndromu u pacientů s kongenitální hypotyreózou diagnostikovanou novorozeneckým screeningem	34

Studie, část 1 – článek II: **Pendred syndrome among patients with congenital hypothyroidism detected by neonatal screening: identification of two novel**

<i>PDS/SLC26A4</i> mutations	36
Abstract	37
Introduction	38
Subjects and Methods	40
Historical cohort of patients with CH	40
Molecular studies	41
Further examination of subjects with mutations and their families	41
Results	42
Discussion	48
Mutations in the <i>PDS/SLC26A4</i> as a cause of deafness in CH	48
Mutations in the <i>PDS/SLC26A4</i> as a cause of CH	49
Manifestation of thyroid disease in Pendred syndrome	50
Heterogeneity of mutations in <i>PDS</i>	51
Conclusions	52
Acknowledgements	52
References	53
Studie, část 1 – diskuze	58
Mutace v <i>PDS/SLC26A4</i> genu jako příčina kongenitální hypotyreózy na podkladě dysmorfogenese	58
Mutace v <i>PDS/SLC26A4</i> genu jako příčina poruch sluchu u pacientů s kongenitální hypotyreózou	59
Heterogenita mutací v <i>PDS/SLC26A4</i> genu	60

Studie, část 2 – úvod: Genetická studie Pendredova syndromu u pacientů s kongenitální hypotyreózou detekovanou novorozeneckým screeningem nebo postnatální neautoimunitní hypotyreózou manifestující se v dětství	62
Studie, část 2 – článek III: Pendredův syndrom u pacientů s hypotyreózou: genetická diagnostika, fenotypová variabilita a výskyt fenokopíí	63
Abstrakt	64
Abstract	65
Úvod	67
Pacienti a metody	69
Pacienti	69
Metody	71
Etické aspekty	71
Výsledky	72
Diskuze	79
Závěr	82
Poděkování	83
Literatura	84
Studie, část 2 – diskuze	87
Fenotypická variabilita poruchy štítné žlázy u Pendredova syndromu	87
Intrafamiliární fenotypická variabilita u Pendredova syndromu	88
Heterogenita mutací <i>PDS/SLC26A4</i> genu	89
Studie, část 3 – úvod: Kazuistika pacientky s Pendredovým syndromem a multinodulární strumou	90

Studie, část 3 – článek IV: **Thyroidectomy in a patient with multinodular goitre – a case of Pendred syndrom confirmed by a finding mutations in the**

<i>PDS/SLC26A4</i> gene	91
Abstract	92
Introduction	93
Case Report	94
Discussion	99
Acknowledgements	102
References	104
Studie, část 3 – diskuze	107
Patofyziologie dyshormonogenetických strum	107
Léčba dyshormonogenetických strum	107
Závěr	110
Literatura	112
Seznam publikací doktoranda	125

Anotace

Úvod do problému

Pendredův syndrom je jednou z příčin kongenitální hypotyreózy na podkladě dyshormonogeneze. Jedná se o autozomálně recesivně dědičné onemocnění definované jako asociace sensorineurální hluchoty a dyshormonogenetické strumy. Onemocnění je způsobeno mutacemi v *PDS/SLC26A4* genu kódujícím pendrin - aniontový transportér, který je exprimován hlavně ve štítné žláze a vnitřním uchu. Pendredův syndrom má vysokou variabilitu fenotypu, zejména co se týče poruchy štítné žlázy. Dyshormonogeneze se projeví jen u 80 % pacientů jako eutyreoidní nebo hypotyreoidní struma a jen zřídka je klinicky významná již při narození, kdy může být diagnostikována novorozeneckým screeningem. Vzhledem k jiným možným příčinám asociace poruchy sluchu a štítné žlázy je onemocnění známé vysokou frekvencí fenokopií, což značně znesnadňuje klinické stanovení této diagnózy.

Vědecké otázky

- role pendrinu v patogenezi kongenitální hypotyreózy
- variabilita fenotypických projevů mutací v genu pro pendrin, mutace v genu pro pendrin jako příčina syndromické hluchoty a strumy v porovnání s hluchotou a strumou jiné etiologie
- molekulárně genetická podstata mechanismů v patogenezi kongenitální hypotyreózy versus fenokopie

Hypotéza

Dle dosavadních studií je *PDS/SLC26A4* gen jedním z klíčových genů v patogenezi kongenitální hypotyreózy na podkladě dys hormonogeneze. Lze proto předpokládat, že u určité části dětí s kongenitální hypotyreózou je právě kvalitativní nebo kvantitativní porucha pendrinu její příčinou. Jelikož defekt v pendrinu současně vede k sensorineurální nedoslýchavosti, lze mutace v *PDS/SLC26A4* genu nalézt zejména u dětí s kombinovaným postižením štítné žlázy a sluchu. Porucha sluchu u dětí s kongenitální hypotyreózou však může být způsobena i jinými patogenetickými mechanismy, zejména přímým vlivem tyreoidálních hormonů na vyvíjející se buňky vnitřního ucha v prenatálním a perinatálním období, nebo se také může jednat o zcela náhodnou koincidence obou postižení. Je tedy pravděpodobné, že u určité části dětí s kongenitální hypotyreózou asociovanou s poruchou sluchu se bude jednat o fenokopie Pendredova syndromu. Definitivním potvrzením této hypotézy je pak nález na molekulárně-genetické úrovni - mutace v genu pro pendrin.

Úvod do problému

Kongenitální hypotyreóza je nejčastější vrozená endokrinní porucha, vyskytující se s frekvencí 1 : 3 000 až 1 : 4 000 novorozenců (Gruters et al. 2003, La Franchi 1999). Dívky jsou postiženy 2-4krát častěji než chlapci (Roberts et al. 1997). Onemocnění je ve 75 - 80 % způsobeno defekty v prenatálním vývoji štítné žlázy (dysgeneze, incidence 1 : 4 500), ve zbylých 20 - 25 % vzniká na podkladě poruchy biosyntézy tyreoidálních hormonů (dys hormonogeneze, incidence 1 : 30 000) (LaFranchi 1999).

Tyreoidální hormony hrají zcela nezastupitelnou úlohu v prenatálním i postnatálním vývoji centrálního nervového systému, zejména do 3 let věku (Oppenheimer a Schwartz 1997). Jejich deficit proto vede k těžkému ireverzibilnímu postižení vyvíjejícího se jedince, které zahrnuje mentální retardaci, hluchoněmost a řadu neurologických symptomů (DeLong et al.1985). Při časném stanovení diagnózy a zahájení adekvátní, v současnosti snadno dostupné léčby se však klinické symptomy u většiny dětí nevyvíjejí a psychomotorický vývoj probíhá příznivě. Onemocnění je proto cíleně vyhledáváno celoplošným novorozeneckým screeningem (v České republice od roku 1985), který je v současné době založen na vyšetření hladiny TSH v suché kapce krve a povinně se provádí u všech novorozenců ve věku 72 – 96 hodin (Věstník MZČR 2002, ESPE Guidelines 1999).

Dlouhá léta byl za nejdůležitější faktor v etiologii kongenitální hypotyreózy považován deficit jódu. Tento tzv. kretenismus se vyskytoval většinou endemicky v oblastech

s extrémním nedostatkem jódu v potravě (Djemli et al. 2006, Stanbury 1984). V Evropě šlo hlavně o vysokohorské oblasti jako je Švýcarsko nebo Tyrolsko, v České republice pak pohraničí, například Krušné hory. Tento problém se podařilo téměř úplně odstranit celoplošným přidáváním jódu do soli (Zamrazil 1998). Na druhé straně se však vždy objevovaly i sporadické případy, jejichž etiologie dlouho nebyla známá, a také případy familiární, s postižením více členů rodiny. Výzkumy posledních desetiletí se zaměřily především na tyto případy a v 80. a 90. letech 20. století pátrání po molekulární podstatě kongenitální hypotyreózy přineslo mnoho nových informací a u řady pacientů se podařilo identifikovat mutace v zodpovědných genech. Velkým přínosem byl i poznatek, že některé geny nejsou významné jen pro vývoj a funkci štítné žlázy, ale i pro jiné orgány, což z části pomohlo vysvětlit velký výskyt sdružených vrozených vývojových vad u dětí s kongenitální hypotyreózou (u dysgeneze štítné žlázy je udáváno až 15 %) (Siebner et al. 1992, Devos et al. 1999).

Jednou z nejčastějších funkčních vrozených vad spojených s kongenitální hypotyreózou je porucha sluchu (Debruyne et al. 1983). Její časné rozpoznání je dnes zajištěno povinným screeningovým vyšetřením sluchu metodou otoakustických emisí do 3 měsíců věku dítěte (Věstník MZČR 2002). Většina případů poruchy sluchu u kongenitální hypotyreózy je sekundární, tj. způsobená chyběním tyreoidálních hormonů, které jsou zcela nezbytné pro normální vývoj centrálního a periferního sluchového systému (Meyerhoff 1979). Tato asociace však může být i geneticky podmíněná, způsobená mutací v genu pro pendrin - protein, který se exprimuje ve štítné žláze a zároveň ve vnitřním uchu a proto vede k postižení obou orgánů.

Kombinované postižení štítné žlázy a vnitřního ucha způsobené mutací v genu pro pendrin je známo pod názvem Pendredův syndrom. Defekt v pendrinu se však v závislosti na různých, doposud ne zcela objasněných faktorech může manifestovat i jako izolované postižení sluchu bez jakékoliv patologie štítné žlázy. Zmiňované faktory mohou být jednak genetické (např. odlišný dopad jednotlivých mutací na funkci pendrinu) nebo vnější, podmíněné prostředím, ve kterém jedinec žije (např. rozličný přísun jodidu ve stravě). Uvedené skutečnosti vedou ke dvěma již dobře známým charakteristikám Pendredova syndromu - vysoké fenotypické variabilitě a výskytu fenokopí – které značně znesnadňují stanovení této diagnózy.

V této práci se autorka zabývá rolí pendrinu v patogenezi vrozené nedostatečnosti štítné žlázy, předkládá molekulárně-genetickou studii zaměřenou na nalezení mutací v genu pro pendrin, popisuje jejich různé fenotypické projevy a věnuje se problematice správného stanovení diagnózy, léčebné strategie a dalšího sledování těchto pacientů. Teoretické poznatky k danému tématu byly zpracovány formou souborného referátu v časopisu Diabetologie, Metabolismus, Endokrinologie, Výživa (článek I).

Úvod do problému - článek I

**Pendrin a jeho úloha v patogenezi kongenitální hypotyreózy a dalších
onemocnění**

**Pendrin and its role in the pathogenesis of congenital hypothyroidism and
other diseases**

Karolína Banghová, Eva Al Taji, Jan Lebl

Klinika dětí a dorostu UK - 3. LF a FNKV

a Centrum pro výzkum diabetu, metabolismu a výživy UK - 3. LF, Praha

Souborný referát, DMEV 2006; 9(2):12-17

Problematika řešena s podporou výzkumného záměru MSM 0021620814.

Souhrn

Pendrin je aniontový transportér, který se exprimuje v několika orgánech. Ve štítné žláze je lokalizovaný na apikálním pólu tyreocytu a přenáší jodid z tyreocytu do koloidu v lumen folikulu, kde je jodid organifikován. Extratyroidálně se exprimuje ve vnitřním uchu, ledvinách, placentě a prsní žláze. U nositelů mutací genu pro pendrin (*PDS*, *SLC26A4*) byly popsány variabilní fenotypické projevy s autozomálně recesivním typem dědičnosti: kombinované postižení štítné žlázy a sluchu (Pendredův syndrom - OMIM274600), nesyndromická vrozená hluchota (DFNB4 - OMIM600791) nebo izolovaná dilatace vestibulárního akvaduktu (EVA - OMIM603545). Postižení štítné žlázy u Pendredova syndromu se nejčastěji manifestuje v druhé dekádě života pod obrazem eutyreoidní nebo hypotyreoidní strumy, u menší části pacientů se projeví dyshormonogeneze již při narození a onemocnění je pak diagnostikováno celoplošným novorozeneckým screeningem pro kongenitální hypotyreózu.

Klíčová slova

gen *SLC26A4* · pendrin · Pendredův syndrom · DFNB4 · EVA · kongenitální hypotyreóza

Summary

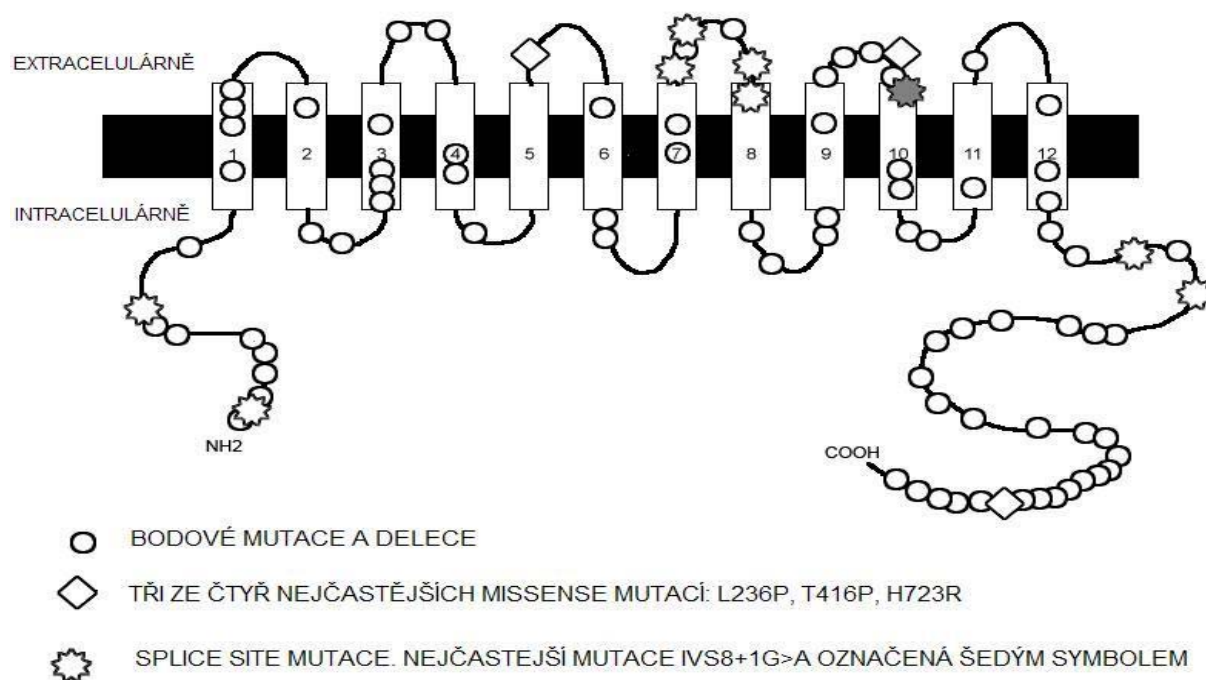
Pendrin is an anion transporter that is expressed in several organs. In the thyroid gland, pendrin is localized at the apical pole of thyrocytes and it is responsible for the iodide efflux from thyrocytes into the colloid in the follicular lumen where iodide is organificated. The extrathyroidal expression was shown in the inner ear, kidney, placenta and mammary gland. Carriers of mutations in the pendrin gene (*PDS*, *SLC26A4*) display variable phenotypical features following the autosomal recessive manner of the inheritance: combined thyroid and hearing affection (Pendred syndrome - OMIM274600), nonsyndromic autosomal recessive neurosensory deafness (DFNB4 - OMIM600791) or isolated enlarged vestibular aqueduct (EVA - OMIM603545). The thyroid affection is usually manifested as euthyroid or hypothyroid goitre in the second decade of life. In a minority of patients, dyshormonogenesis is present at birth, and the disease is diagnosed in the frame of the nation-wide neonatal screening for congenital hypothyroidism.

Key words

SLC26A4 gene · pendrin · Pendred syndrome · DFNB4 · EVA · congenital hypothyroidism

Pendrin, jeho orgánová exprese a funkce

Pendrin je transmembránový protein, který tvoří 780 aminokyselin uspořádaných do 11 nebo 12 transmembránových domén (obr. 1).



Obrázek 1 Struktura pendrinu a lokalizace doposud identifikovaných mutací.

Na základě strukturální podobnosti byl pendrin původně zařazen do skupiny evolučně vysoce konzervovaných proteinů - sulfátových transportérů (11). Další studie nepotvrdily funkci pendrinu jako sulfátového transportéru (17) a prokázaly, že pendrin funguje v řadě orgánů zejména jako chlorido-jodidový (35), chlorido-hydroxylový a chlorido-bikarbonátový (37) aniontový přenašeč.

Gen pro pendrin (OMIM 605646), pro který se používá název *SLC26A4* (member 4 of solute carrier family 26) nebo *PDS* (Pendred's syndrome gene), je lokalizovaný na 7. chromozómu (7q22-q31) a tvoří ho 21 exonů (11). Je řazen do genové rodiny SLC 26 (solute linked carrier 26), jejíž 11 genů kóduje proteiny fungující v různých orgánech jako transportéry pro monovalentní a divalentní anionty (např. sulfát, chlorid, bikarbonát, jodid, oxalát, hydroxyl) (v přehledu 7). Pendrin byl detekován ve štítné žláze, vnitřním uchu, ledvinách (11), placentě (3) a prsní žláze (30). Kvantitativní RT-PCR navíc ukázala méně významnou expresi genu pro pendrin v endometriu, plicích, prostatě a varleti (18).

Ve štítné žláze se pendrin začíná prenatálně exprimovat v období funkční diferenciaci tyreoidálních folikulárních buněk, kdy je jeho exprese řízena transkripčním faktorem TTF1/NKX2.1 (8). Pendrin je lokalizovaný na apikální membráně tyreocytu a přenáší jodid z tyreocytu do koloidu v lumen folikulu, kde je jodid následně organifikován (33). Pracuje nezávisle na sodíku a jodid exportuje výměnou za chlorid (42). Na apikální straně tyreocytu byl nedávno identifikován další jodidový transportér – hAIT (human apical iodide transporter) (31). Aktivní transport jodidu z krevního pólu do tyreocytu zajišťuje NIS (natrium-jodidový symportér, gen *SLC5A5*), lokalizovaný na bazolaterální membráně tyreocytu (18). Kvantitativní změny v expresi pendrinu i jeho distribuci v tyreocytech byly popsány u řady onemocnění štítné žlázy (např. výrazný pokles u karcinomu) (4).

Méně objasněná je úloha pendrinu ve vnitřním uchu. U *Pds*^{-/-} myši je úplná hluchota provázena známkami vestibulární dysfunkce. Již prenatálně se rozvíjí dilatace

endolymfatických prostorů, časně postnatálně dochází k degeneraci vláskových buněk a deformaci otolitů (10). Pendrin se exprimuje zejména v ductus a saccus endolymphaticus, ale také např. v utrikulu a sakulu a pravděpodobně se podílí na regulaci sekrece a resorpce endolymfy a udržování endokochleárního potenciálu (12). Novější studie ukázaly, že pendrin působí v saccus endolymphaticus jako chlorido-bikarbonátový transportér a je nezbytný pro udržování acidobazické rovnováhy endolymfy. Nefyziologické změny pH endolymfy mohou vést k poruše její resorpce, rozšíření membranózního labyrintu a následně i nezralých okolních kostních struktur (9).

Pendrin se prenatálně a postnatálně exprimuje také v ledvinách, kde se v korových sběrných kanálcích účastní sekrece bikarbonátu a resorpce chloridu (34). Jeho exprese je regulovaná změnami acidobazické rovnováhy (narůstá se zvyšujícím se pH) (14) a chronickými změnami v chloridové rovnováze (snižuje se při zvýšené zátěži NaCl) (26). Jak u nositelů mutací genu pro pendrin, tak u $Pds^{-/-}$ myši nebyly popsány poruchy ledvinných funkcí, vodního hospodářství nebo acidobazické a elektrolytové rovnováhy (34). Předpokládá se, že se symptomy mohou projevit při zvýšené zátěži např. při metabolické alkalóze, kdy se za normálního stavu pendrin začíná exprimovat zvýšeně.

V placentě zajišťuje pendrin spolu s NIS transport jodidu z cirkulace matky do krevního oběhu plodu, pro který je takto získaný jodid zcela nezbytný pro nastupující funkci štítné žlázy. Pendrin se exprimuje na maternální straně placenty v kartáčkovém lemu buněk syncytiotrofoblastu a jeho exprese během těhotenství

narůstá k maximu ve třetím trimestru (4). Pendrin a NIS společně zajišťují také přenos jodidu do mateřského mléka. Exprese pendrinu během laktace je v prsní žláze řízena prolaktinem (30).

Fenotypické projevy defektu genu pro pendrin

1. Pendredův syndrom

Zvláštní asociace hluchoty a strumy byla poprvé popsána před 110 lety v Lancetu Vaughanem Pendredem (23). Pendredův syndrom (OMIM274600) byl v druhé polovině 20. století klinicky definován klasickou triádou sensorineurální hluchota - struma - pozitivní perchlorátový test. Současná moderní definice charakterizuje Pendredův syndrom jako autozomálně recesivní onemocnění, u něhož dominuje sensorineurální porucha sluchu s typickými strukturálními malformacemi vnitřního ucha, která je, ale ne vždy, provázena eufunkční nebo hypofunkční strumou (28). Klinické projevy Pendredova syndromu jsou velmi variabilní, a to i intrafamiliárně.

Porucha sluchu u Pendredova syndromu je sensorineurální (percepční) a většinou bilaterální (ale může být asymetrická), je vrozená nebo se rozvíjí pre- a perilinguálně v raném dětském věku (13). Většinou je těžká (> 60 dB) a progredující, ale stupeň postižení může i fluktuovat. U některých pacientů jsou postiženy hlavně vyšší frekvence. Porucha sluchu je asociovaná s typickými vrozenými malformacemi vnitřního ucha, zobrazitelnými při CT spánkové kosti nebo MRI vnitřního ucha (24, 28). V 80% je diagnostikováno rozšíření vestibulárního akvaduktu s dilatací

membranózního labyrintu, ve 20% se vyskytuje tzv. Mondiniho kochlea - komplexní malformace vnitřního ucha, kdy se důsledkem absence interskalárního septa v hrotové části kochley vytváří dutina (poprvé popsána Mondinim v roce 1791) (21). Malformace membranózního labyrintu zobrazitelné při MRI jsou považovány za znak s vůbec nejvyšší diagnostickou hodnotou (15). Pendredův syndrom je se svojí incidencí 7,5 – 10 : 100 000 nejčastější příčinou syndromické hluchoty a tvoří asi 10% případů vrozené nedoslýchavosti (13, 29).

U více než poloviny pacientů bývá diagnostikována také vestibulární dysfunkce. Klinicky se projevuje epizodami vertiga, které mohou být spojené s náhlým zhoršením sluchu.

U většiny pacientů dochází v druhé dekádě života, nejčastěji v období puberty, k rozvoji strumy. Struma je difúzní nebo multinodulární (27) a může být provázena normální funkcí štítné žlázy, kompenzovanou nebo méně často klinicky manifestní hypotyreózou. Spíše vzácně je struma přítomna už při narození a hypotyreóza je detekována v rámci novorozeneckého screeningu kongenitální hypotyreózy.

Hypotyreóza vzniká na podkladě dys hormonogeneze - jodid není transportován do lumen folikulu a nedochází k jeho organifikaci (tj. oxidaci a kovalentní vazbě na tyrozinové zbytky, které jsou následně spojovány). Důsledkem poruchy jodidového transportního mechanismu je tak parciální defekt organifikace (PIOD), který se odráží v pozitivitě perchlorátového testu - intravenózní aplikace perchlorátu po předchozím podání ^{123}I způsobí vymytí více než 15% akumulovaného radiojodu (normálně

dochází k vyplavení méně než 10% akumulované dávky). (29). Perchlorátový test je dnes považován za nespecifický a málo senzitivní, problematická je jeho indikace v dětském věku. Rozhodující pro klinické stanovení diagnózy je proto zobrazení vnitřního ucha (27). Normální parametry funkce štítné žlázy u některých pacientů a přítomnost pouze parciálního a nikoli úplného defektu organifikace u ostatních pacientů svědčí pro přítomnost jiných apikálních jodidových transportérů (31) a dalších mechanismů částečně kompenzujících defekt pendrinu.

2. DFNB4

Defekt pendrinu se může manifestovat jako izolovaná nesyndromická autozomálně recesivní vrozená sensorineurální hluchota (DFNB4 OMIM600791) (19). Stejně jako u Pendredova syndromu je porucha sluchu těžká, progresivní, prelinguální a je provázená strukturálními anomáliemi vnitřního ucha (EVA, Mondiniho kochlea). Diagnóza DFNB4 může během života přecházet v diagnózu Pendredova syndromu, pokud se u pacienta objeví struma nebo porucha funkce štítné žlázy (2).

3. EVA

Syndrom rozšířeného vestibulárního akvaduktu (synonyma LVAS, DVA, EVA-enlarged vestibular aqueduct, OMIM603545) je nejčastější abnormalitou vnitřního ucha a je spojen s fluktuující, nebo progresivní sensorineurální poruchou sluchu (40). Kromě Pendredova syndromu a DFNB4 se tato malformace objevuje např. u distální renální tubulární acidózy spojené s nedoslýchavostí (OMIM267300) a u některých dalších syndromů.

Molekulární genetika

V genu pro pendrin (*PDS*, *SLC26A4*) bylo doposud identifikováno více než 90 mutací u familiárních a izolovaných forem Pendredova syndromu, DFNB4 a EVA (aktuální přehled všech mutací viz www.medicine.uiowa.edu/pendredandbor). Mutace v *PDS/SLC26A4* jsou považovány za nejčastější příčinu strukturálních abnormalit spánkové kosti (5).

V kavkazské populaci jsou u více než poloviny probandů detekovány bodové missense mutace L236P (leucin - prolin) v exonu 6, T416P (threonin-prolin) v exonu 10, E384G (glutamin - glycin) v exonu 9 a substituce IVS8+1G>A (1001+1G>A) na rozhraní exonu a intronu 8 (donor splice site) (např. 5, 6, 22, 36). V asijské populaci je nejčastější missense mutace H723R v exonu 19 (39). Za příčinu vysoké frekvence těchto mutací je považován spíše „founder effect“ (společný předek) než mutační „hot spot“ (6, 39). V širokém spektru doposud detekovaných mutací v *PDS/SLC26A4* jsou dále zastoupeny nonsense mutace vedoucí k předčasnému ukončení translace i delece a inzerce s následným posunem čtecího rámce (např. 6, 11, 15, 16, 19, 20, 25). U probandů z pokrevně spřízněných rodin jsou mutace detekovány většinou v homozygotním stavu, izolované případy jsou spíše kombinovaní heterozygoti. Onemocnění je sice autozomálně recesivní, ale ve větších rodinách se může přenášet tzv. pseudodominantně.

Nedávné studie vysvětlují poruchu transportní funkce defektního pendrinu na základě jeho retence v endoplazmatickém retikulu. Pendrin není transportován na cílové

místo v tyreocytu a nemůže plnit funkci jodidového transportéru (38, 32). Obdobný mechanismus strádání defektního proteinu v endoplazmatickém retikulu byl popsán např. u cystické fibrózy, deficitu α 1-antitrypsinu nebo nefrogenního diabetes insipidus.

Zatím není zodpovězena otázka, proč mají defekty v *PDS/SLC26A4* velmi variabilní fenotypické projevy. Funkční studie ukázaly, že některé mutace, jejichž důsledkem je úplná ztráta schopnosti pendrinu transportovat chlorid a jodid, vedou k fenotypu Pendredova syndromu. Pokud je však transportní schopnost pendrinu snížena jen částečně a ve štítné žláze je ještě kompenzovatelná dalšími transportními mechanismy (např. hAIT), fenotypické projevy jsou izolované na poruchu sluchu nebo se postižení štítné žlázy projeví až v pozdějším věku (36). Jiné studie naopak poukázaly na velmi variabilní projevy určité jediné mutace u různých nositelů, což by naznačovalo, že Pendredův syndrom a EVA mohou patřit do širokého spektra fenotypických projevů jediného onemocnění (39). Opakovaně byla popsána fenotypická variabilita i u nositelů téže mutace v rámci jedné rodiny, a to jak ve vztahu ke stupni sluchového postižení a rychlosti jeho progresu, tak vzhledem k postižení štítné žlázy a velikosti strumy (např. 22). Na variabilitě fenotypu se pravděpodobně podílí také další doposud neobjasněné genetické mechanismy a v neposlední řadě exogenní faktory jako např. příjem jódu ve stravě (38). Nejnovější poznatky (25) se však přiklání k hypotéze, že Pendredův syndrom a EVA jsou dvě klinicky i geneticky samostatné jednotky. Zatímco Pendredův syndrom je považován za autozomálně recesivní, geneticky homogenní onemocnění vyvolané bialelickou mutací v *PDS/SLC26A4*,

nesyndromická EVA je pravděpodobně geneticky heterogenní onemocnění. Otázkou pak zůstává existence DFNB4 jako samostatné klinické jednotky (25).

Molekulárně-genetická analýza *PDS/SLC26A4* je indikovaná nejenom u klinicky definovaného Pendredova syndromu, ale u všech izolovaných těžších vrozených poruch sluchu spojených s morfologickými anomáliemi vnitřního ucha (20). Molekulárně-genetického vyšetření je nezbytné ke stanovení definitivní diagnózy Pendredova syndromu a odlišení fenokopí (tzv. pseudo-Pendredův syndrom) (např. 16, 15). V současné době je vzhledem k redefinici Pendredova syndromu preferován komplexní diagnostický přístup zahrnující postupy klinické, biochemické, radiologické, a molekulárně-genetické (15).

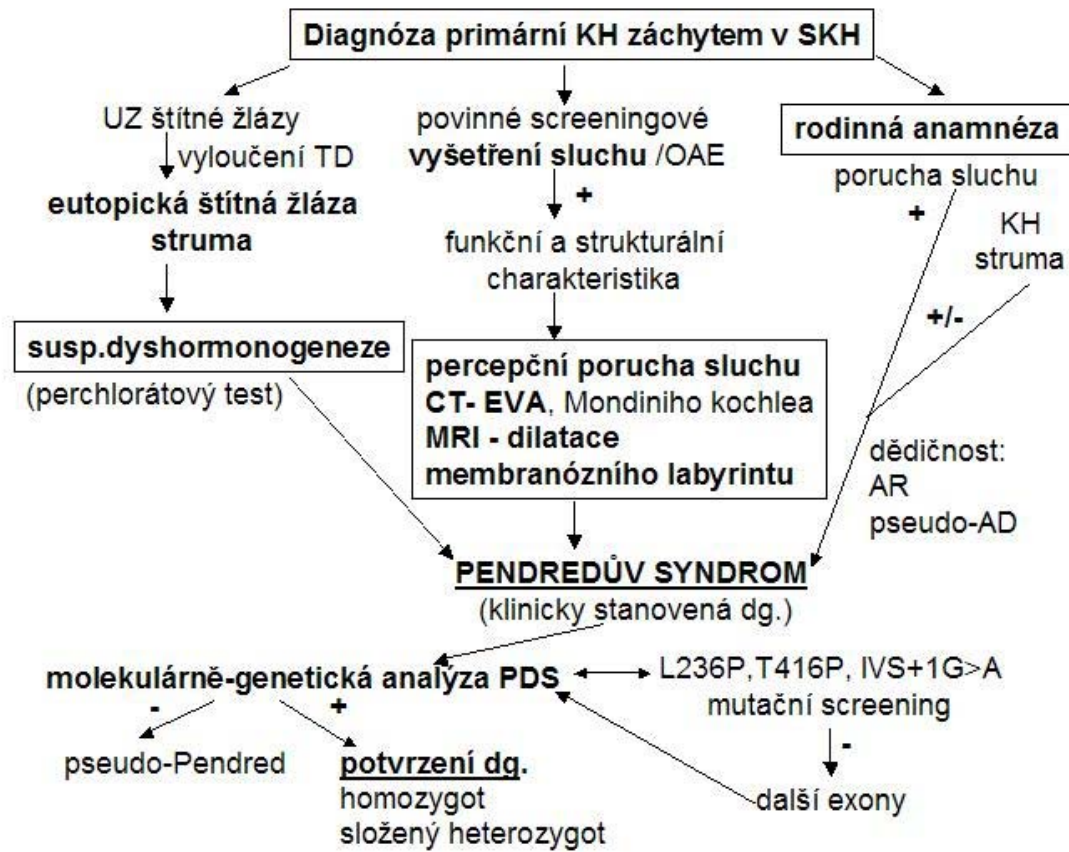
Závěr

Pendrin je klíčovým proteinem v molekulární patogenezi Pendredova syndromu, DFNB4 a syndromu EVA. U nositelů mutace v *PDS/SLC26A4* stojí v popředí klinického obrazu závažná, progredující, většinou bilaterální percepční porucha sluchu, která vyžaduje komplexní péči zahrnující např. použití kompenzačních sluchových pomůcek, ochranu reziduálního sluchu (např. prevence úrazů hlavy, barotraumat), případně symptomatickou léčbu vertiga. I přes strukturální abnormality vnitřního ucha přináší dobré výsledky zavedení kochleárního implantátu (1). V případě primárně diagnostikované poruchy sluchu je třeba mít u těchto dětí na paměti možné postižení štítné žlázy, již aktuálně přítomné nebo se postupně

rozvíjející. Nediagnostikovaná a neléčená hypotyreóza by pak byla dalším faktorem negativně zasahujícím do vývoje a života dítěte.

Pro endokrinology je podstatné, že hypotyreóza v rámci Pendredova syndromu může být přítomna již při narození a diagnostikována v rámci celoplošného novorozeneckého screeningu kongenitální hypotyreózy (obr.2). Časně rozpoznání poruchy sluchu je dnes zajištěno screeningovým vyšetřením sluchu, které je povinné u všech dětí s kongenitální hypotyreózou (vyšetřením otoakustických emisí do 3 měsíců věku dítěte) (41).

I když už dnes známe odpověď na otázku Vaughana Pendreda, na jakém podkladě dochází k asociaci poruchy sluchu a postižení štítné žlázy, otázkou zůstává, zda se defekt pendrinu může klinicky manifestovat také v ostatních orgánech, kde se tento aniontový transportér exprimuje.



Obrázek 2 Schéma stanovení diagnózy Pendredova syndromu po záchytu v novorozeneckém screeningu kongenitální hypotyreózy.

Zkratky: AD - autozomálně dominantní, AR - autozomálně recesivní, KH - kongenitální hypotyreóza, OAE - otoakustické emise, PDS - gen pro pendrin, SKH - screening kongenitální hypotyreózy, TD - dysgenese štítné žlázy.

Literatura

1. Aschendorff A, Marangos N, Laszig R. Large vestibular aqueduct syndrome and its implication for cochlear implant surgery. *Am J Otol* 1997; 18(suppl):S57.
2. Baldwin CT, Weiss S, Farrer L, De Stefano A, Adair R, Franklyn B, Kidd KK, Korostishevsky M, Bonne-Tamir B. Linkage of congenital, recessive deafness (DFNB4) to chromosome 7q31 and evidence for genetic heterogeneity in the Middle Eastern Druze population. *Hum Molec Genet* 1995; 4:1637-1642.
3. Bidart JM, Mian C, Lazar V, Russo D, Filetti S, Caillou B, Schlumberger M. Expression of pendrin and the Pendred syndrome (PDS) gene in human thyroid tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:2028-2033.
4. Bidart JM, Lacroix L, Evain-Brion D, Caillou B, Lazar V, Frydman R, Bellet D, Filetti S, Schlumberger M. Expression of Na⁺/I⁻ symporter and Pendred syndrome genes in trophoblast cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:4367-4372.
5. Campbell C, Cucci RA, Prasad S, Green GE, Edeal JB, Galer CE, Karniski LP, Sheffield VC, Smith RJ. Pendred syndrome, DFNB4, and PDS/SLC26A4 identification of eight novel mutations and possible genotype-phenotype correlations. *Hum Mutat* 2001; 17:403-411.
6. Coyle B, Reardon W, Herbrick JA, Tsui LC, Gausden E, Lee J, Coffey R, Grueters A, Grossman A, Phelps PD, Luxon L, Kendall-Taylor P, Scherer SW, Trembath RC. Molecular analysis of the PDS gene in Pendred syndrome (sensorineural hearing loss and goitre). *Hum Molec Genet* 1998; 7:1105-1112.

7. Dawson PA, Markovich D. Pathogenetics of the human SLC26 transporters. *Curr Med Chem* 2005; 12:385-396.
8. Dentice M, Luongo C, Elefante A, Ambrosio R, Salzano S, Zannini M, Nitsch R, Di Lauro R, Rossi G, Fenzi G, Salvatore D. Pendrin is a novel in vivo downstream target gene of the TTF-1/Nkx2.1 homeodomain transcription factor in differentiated thyroid cells. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 10171-10172.
9. Dou H, Xu J, Wang Z, Smith AN, Soleimani M, Karet FE, Greinwald Jr JH, Choo D. Co-expression of pendrin, vacuolar H⁺-ATPase α_4 -subunit and carbonic anhydrase II in epithelial cells of murine endolymphatic sac. *J Histochem Cytochem* 2004; 52:1377-1384.
10. Everett LA, Belyantseva IA, Noben-Trauth K, Cantos R, Chen A, Thakkar SI, Hoogstraten-Miller SL, Kachar B, Wu DK, Green ED. Targeted disruption of mouse Pds provides insight about the inner-ear defects encountered in Pendred syndrome. *Hum Mol Genet* 2001; 10:153-161.
11. Everett LA, Glaser B, Beck JC, Idol JR, Buchs A, Heyman M, Adawi F, Hazani E, Nassir E, Baxevanis AD, Sheffield VC, Green ED. Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (PDS). *Nat Genet* 1997; 17:411-422.
12. Everett LA, Morsli H, Wu DK, Green ED. Expression pattern of the mouse ortholog of the Pendred syndrome gene (Pds) suggests a key role for pendrin in the inner ear. *Proc. Natl Acad Sci USA* 1999; 96:9727-9732.
13. Fraser GR. Association of congenital deafness with goitre (Pendred's syndrome): a study of 207 families. *Ann Hum Genet* 1965; 28:201-249.

14. Frische S, Kwon TH, Frokiaer J, Madsen KM, Nielsen S. Regulated expression of pendrin in rat kidney in response to chronic NH_4Cl or NaHCO_3 loading. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 284:F584-F593.
15. Fugazzola L, Mannavola D, Cerutti N, Maghnie M, Pagella F, Bianchi P, Weber G, Persani L, Beck-Peccoz P. Molecular analysis of the Pendred's syndrome gene and magnetic resonance imaging studies of the inner ear are essential for the diagnosis of true Pendred's syndrome. *J Clin Endocr Metab* 2000; 95: 2469-2475
16. Kopp P, Arseven OK, Sabacan L, Kotlar T, Dupuis J, Cavaliere H, Santos CL, Jameson JL, Medeiros-Neto G. Phenocopies for deafness and goiter development in large inbred brazilian kindred with Pendred's syndrome associated with a novel mutation in the PDS gene. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:336-341.
17. Kraiem Z, Heinrich R, Sadeh O, Shiloni E, Nassir E, Hazani E, Glaser B. Sulfate transport is not impaired in Pendred syndrome thyrocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:2574-2576.
18. Lacroix L, Mian C, Caillou B, Talbot M, Filetti S, Schlumberger M, Bidart JM. Na^+/I^- symporter and Pendred syndrome gene and protein expressions in human extra-thyroidal tissues. *Eur J Endocrinol* 2001; 144: 297-302.
19. Li XC, Everett LA, Lalwani AK, Desmukh D, Friedman TB, Green ED, Wilcox ER. A mutation in PDS causes non-syndromic recessive deafness. (Letter) *Nat Genet* 1998; 18:215-217.
20. Masmoudi S, Charfedine I, Hmani M, Grati M, Ghorbel AM, Elgaied-Boulila A, Drira M, Hardelin JP, Ayadi M. Pendred syndrome: phenotypic variability in two

- families carrying the same PDS missence mutation. *Am J Med Genet* 2000; 90:38-44.
21. Mondini C. *Opuscula Caroli Mundini: Anatomica Surdi Nati Sectio. De Bononiensi Scientarium et Artium Instituto atque Academia Commentarii. Bononiae, 1791; 7:419-431.*
 22. Napiontek U, Borck G, Müller-Forell W, Pfarr N, Bohnert A, Keilmann A, Pohlenz J. Intrafamilial variability of the deafness and goiter phenotype in Pendred syndrome caused by a T416P mutation in the SLC26A4 gene. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:5347-5351.
 23. Pendred V. Deaf-mutism and goitre. *The Lancet* 1896; II:532.
 24. Phelps PD, Coffey RA, Trembath RC, Luxon LM, Grossman AB, Britton KE, Kendall-Taylor P, Graham JM, Cadge BC, Stephens SG, Pembrey ME, Reardon W. Radiological malformations of the ear in Pendred syndrome. *Clin Radiol* 1998; 53:268-273.
 25. Pryor SP, Madeo AC, Reynolds JC, Sarlis NJ, Arnos KS, Nance WE, Yang Y, Zalewski CK, Brewer CC, Butman JA, Griffith AJ. SLC26A4/PDS genotype-phenotype correlation in hearing loss with enlargement of the vestibular aqueduct (EVA): evidence that Pendred syndrome and non-syndromic EVA are distinct clinical and genetic entities. *J Med Genet* 2005; 42:159-165.
 26. Quentin F, Chambrey R, Trinh-Trang-Tan MM, Fysekidis M, Cambillau M, Paillard M, Aronson PS, Eladari D. The Cl⁻/HCO₃⁻ exchanger pendrin in the rat kidney is regulated in response to chronic alterations in chloride balance. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 287:1179-1188.

27. Reardon W, Coffey R, Phelps PD, Luxon LM, Stephens D, Kendall-Taylor P, Britton KE, Grossman A, Trembath R. Pendred syndrome -100 years of underascertainment? *Quart J Med* 1997; 90:443-447.
28. Reardon W, O'Mahoney CF, Trembath R, Jan H, Phelps PD. Enlarged vestibular aqueduct: a radiological marker of Pendred syndrome, and mutation of the PDS gene. *Quart J Med* 2000; 93: 99-104.
29. Reardon W, Trembath RC. Pendred syndrome. *J Med Genet* 1996; 33: 1037-1040.
30. Rillema JA, Hill MA. Prolactin regulation of the pendrin-iodide transporter in the mammary gland. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 284:E25-E28.
31. Rodriguez AM, Perron B, Lacroix L, Caillou B, Leblanc G, Schlumberger M, Bidart JM, Pourcher T. Identification and characterization of a putative human iodide transporter located at the apical membrane of thyrocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 3500-3503.
32. Rotman-Pikielny P, Hirschberg K, Maruvada P, Suzuki K, Royaux IE, Green ED, Kohn LD, Lippincott-Schwartz J, Yen PM. Retention of pendrin in the endoplasmatic reticulum is a major mechanism for Pendred syndrome. *Hum Mol Genet* 2002; 11:2625-2633.
33. Royaux IE, Suzuki K, Mori A, Kato R, Everett L, Kohn LD, Green ED. Pendrin, the protein encoded by the Pendred syndrome gene (PDS), is an apical porter in the thyroid and is regulated by thyroglobulin in FRTL-5 cells. *Endocrinology* 2000; 141:839-845.
34. Royaux IE, Wall SM, Karniski LP, Everett LA, Suzuki K, Knepper MA, Green ED. Pendrin, encoded by the Pendred syndrome gene, resides in the apical

- region of renal intercalated cells and mediates bicarbonate secretion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98:4221-4226.
35. Scott DA, Wang R, Kreman TM, Sheffield VC, Karniski LP. The Pendred syndrome gene (PDS) encodes a chloride-iodide transport protein. *Nat Genet* 1999; 21:440-443.
 36. Scott DA, Wang R, Kreman TM, Andrews M, McDonald JM, Bishop JR, Smith RJH, Karniski LP, Sheffield VC. Functional differences of PDS gene product are associated with phenotypic variation in patients with Pendred syndrome and non-syndromic hearing loss (DFNB4). *Hum Mol Genet* 2000; 9:1709-1715.
 37. Soleimani M, Greeley T, Petrovic S, Wang Z, Amlal H, Kopp P, Burnham CE. Pendrin: an apical $\text{Cl}^-/\text{OH}^-/\text{HCO}_3^-$ exchanger in the kidney cortex. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; 280:F356-F364.
 38. Taylor JP, Metcalfe RA, Watson PF, Weetman AP, Trembath RC. Mutations of the PDS gene, encoding pendrin are associated with protein mislocalization and loss of iodide efflux: implications for thyroid dysfunction in Pendred syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:1778-1784.
 39. Tsukamoto K, Suzuki H, Harada D, Namba A, Abe S, Usami S. Distribution and frequencies of PDS (SLC26A4) mutations in Pendred syndrome and nonsyndromic hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct: a unique spectrum of mutations in Japanese. *Europ J Hum Genet* 2003; 11:916-922.
 40. Valvassori GE. The large vestibular aqueduct and associated anomalies of the inner ear. *Otolaryng Clin North Am* 1983; 16: 95-101.

41. Věstník MZ ČR. Metodický návod zajištění celoplošného novorozeneckého laboratorního screeningu a následné péče, oddíl 2 - kongenitální hypotyreóza, 2002; 9:4-11.
42. Yoshida A, Hisatome I, Taniguchi S, Sasaki N, Yamamoto Y, Miake J, Fukui H, Shimizu H, Okamura T, Okura T, Igawa O, Shigemasa C, Green ED, Kohn LD, Suzuki K. Mechanism of iodide/chloride exchange by pendrin. *Endocrinology* 2004; 145:4301-4308.

Studie, část 1 - úvod

Genetická studie Pendredova syndrom u pacientů s kongenitální hypotyreózou diagnostikovanou novorozeneckým screeningem

V roce 2003 byla na Klinice dětí a dorostu UK - 3. LF a FN KV v Praze MUDr. Evou Al Taji založena DNA banka kongenitální hypotyreózy. V této bance byly shromažďovány vzorky DNA pacientů, kteří

- byly zachyceni novorozeneckým screeningem kongenitální hypotyreózy v jednom ze screeningových center České Republiky (Praha a Brno) v letech 1985 – 2005,
- měli non-autoimunitní hypotyreózu, která sice nebyla zachycena novorozeneckým screeningem, ale projevila se v dětském věku.

Na rozšiřování DNA banky spolupracovalo 9 dětských endokrinologů, pracujících na větších univerzitních dětských klinikách nebo v ambulancích v České republice. Ke každému pacientovi, jehož vzorek byl odeslán do DNA banky, byl ošetřujícím endokrinologem vyplněn fenotypický dotazník, obsahující informace o

- rodinné a osobní anamnéze pacienta,
- způsobu záchytu hypotyreózy, klinické symptomatologii a hladinách hormonů štítné žlázy při záchytu, resp. před zahájením substituční léčby,
- výsledku zobrazovacího vyšetření štítné žlázy při záchytu, resp. před zahájením substituční léčby,
- dalším vývoji onemocnění,
- jiných chorobách či sdružených vývojových vadách nalezených u pacienta.

Sběr pacientů byl ukončen v roce 2005, kdy banka čítala 232 vzorků DNA. Z nich bylo 197 pacientů s kongenitální hypotyreózou zachycenou novorozeneckým screeningem, 30 pacientů s non-autoimunitní hypotyreózou diagnostikovanou v dětském věku a 5 pacientů s vrozenou non-autoimunitní hypotyreózou, kteří se narodili před zavedením screeningu.

V první části naší studie jsme se zaměřili pouze na pacienty s kongenitální hypotyreózou zachycenou novorozeneckým screeningem. Naším cílem bylo v této skupině identifikovat pacienty s Pendredovým syndromem a následně diagnózu potvrdit nalezením mutací v genu pro pendrin. Ze 197 pacientů byly na základě retrospektivního vyhodnocení fenotypických dotazníku nejprve vyhledáni ti, u kterých se v průběhu života vyvinula porucha sluchu jakéhokoliv typu. Další selekcí jsme pak vybrali pacienty splňující obě klinická kritéria Pendredova syndromu:

- kongenitální hypotyreóza na podkladě dyshormonogeneze, tj. struma nebo normálně velká štítná žláza v obvyklé lokalizaci při prvním zobrazovacím vyšetření štítné žlázy
- sensorineurální, tj. percepční porucha sluchu.

U těchto pacientů jsme vyšetřili gen pro pendrin. První část studie byla publikována formou původní práce v časopisu *European Journal of Pediatrics* (článek II).

Studie, část 1 – článek II**Pendred syndrome among patients with congenital hypothyroidism detected by neonatal screening: identification of two novel *PDS/SLC26A4* mutations**

Karolina Banghova¹, Eva Al Taji², Ondrej Cinek¹, Dana Novotna³, Radka Pourova¹,
Jirina Zapletalova⁴, Olga Hnikova² and Jan Lebl¹

¹ Department of Paediatrics, Second Faculty of Medicine, Charles University in
Prague, Prague, Czech Republic

² Department of Paediatrics, Third Faculty of Medicine, Charles University in Prague,
Prague, Czech Republic

³ Second Department of Paediatrics, University Hospital, Brno, Czech Republic

⁴ Department of Paediatrics, Faculty of Medicine, Palacky University, Olomouc,
Czech Republic

Short title: Pendred syndrome in congenital hypothyroidism

Original article, Eur J Pediatr 2008; 167(7):777-783

*The study was supported by grants of the Czech Ministry of Education (MSM
0021620814) and Charles University in Prague (GAUK 2008/2007)*

Abstract

Pendred syndrome is an autosomal recessive disorder characterised by sensorineural hearing loss and thyroid dysmorphogenesis. It is caused by mutations in *PDS/SLC26A4* gene (OMIM 605646) encoding for pendrin. Hypothyroidism in Pendred syndrome can be - although rarely - present from birth and therefore diagnosed by neonatal screening. The aim of our study was to identify patients with Pendred syndrome among a historical cohort of patients with congenital hypothyroidism (CH) identified by neonatal screening, and to find their mutations in the *PDS/SLC26A4* gene. We investigated 197 Czech Caucasian children with CH detected by the neonatal screening between years 1985 and 2005. The clinical diagnosis of Pendred syndrome was based on the laboratory and sonographic signs of thyroid dysmorphogenesis in association with sensorineural hearing loss. In subjects clinically diagnosed as Pendred syndrome, we sequenced all exons and exon-intron boundaries of the *PDS/SLC26A4* gene. Hearing loss was present in 10/197 children with screening-detected CH. Of these, three fulfilled the diagnostic criteria of Pendred syndrome. Two patients were compound heterozygotes for *PDS/SLC26A4* mutations: patient 1 carried c.2089+1G>A / c.3G>C, patient 2 carried p.Tyr530His / p.Val422Asp. Two of the four identified mutations were novel (c.3G>C in patient 1 and p.Val422Asp in patient 2). The third patient was free of mutations in the *PDS/SLC26A4* gene, representing a phenocopy.

Conclusion: Our results indicate the rarity of Pendred syndrome as a cause of CH.

The identification of two novel mutations expands the spectrum of mutations in the *PDS/SLC26A4* gene and emphasizes their marked allelic heterogeneity.

Keywords

Congenital hypothyroidism · *PDS* · *SLC26A4* · pendrin · sensorineural hearing loss

Introduction

Pendred syndrome (OMIM 274600) is an autosomal recessive disease, characterised by functional impairment of the thyroid gland due to thyroid dyshormonogenesis, sensorineural hearing loss and developmental malformations of the inner ear (23). It is caused by mutations in the gene encoding pendrin, a transmembrane anion transporter that is highly expressed in the thyroid and in the inner ear (12). The gene, being referred as *PDS* or *SLC26A4* (member 26 of the Solute Linked Carrier family A4, OMIM 605646), consists of 21 exons (12) and has been mapped to chromosome 7q31 (9, 29).

In the thyroid, pendrin is expressed at the apical surface of thyrocytes (25). It acts as a chloride-iodide exchanger transporting iodide from the cell to the colloid in the follicular lumen, where iodide is organified (27). Loss of pendrin function results in defective iodide organification that induces thyroid overgrowth and goitre in most affected individuals. However, an overt hypothyroidism develops only in about one third of subjects with Pendred syndrome (21).

In the inner ear, pendrin is probably involved in the maintenance of the endolymph homeostasis in the membranous labyrinth (24). Deafness or milder forms of hearing

impairment develop pre- or perilingually and are frequently associated with radiologically detectable structural malformations of the inner ear - enlarged vestibular aqueduct (EVA) and Mondini's cochlea (19).

Whilst sensorineural hearing loss and structural malformations of the inner ear are consistent features of Pendred syndrome, the expression of thyroid impairment is highly variable (13, 22). In a minority of patients dyshormonogenesis is present at birth and is diagnosed by neonatal screening for congenital hypothyroidism (CH) (14, 21). Nevertheless, very little is known about the proportion of patients with Pendred syndrome among children with CH. To our knowledge, only one study has been designed to assess the incidence of Pendred syndrome in a cohort of subjects with CH. However, it was conducted before genetic testing became available, and therefore the diagnosis was based solely on the clinical symptoms (8).

Our study therefore aimed to ascertain patients carrying mutations in the *PDS/SLC26A4* gene among subjects with CH detected by neonatal screening. We conducted this study with two main goals: a) to investigate the *PDS/SLC26A4* gene as one candidate gene for CH and b) to establish how frequently Pendred syndrome causes hearing impairment in our patients with CH. A retrospective cohort of patients with screening-detected CH was evaluated regarding the occurrence of hearing impairment during their childhood. Patients with the combination of CH due to thyroid dyshormonogenesis and sensorineural hearing loss were tested for mutations in *PDS/SLC26A4* gene.

Subjects and Methods

Historical cohort of patients with CH

Previously, a large group of patients with CH was collected, thoroughly characterized and analysed for mutations in several candidate genes (2). In the present work, among children diagnosed by CH screening between 1985-2005, a group of 197 phenotypically characterized patients was revisited with the intention to identify patients with Pendred syndrome. Retrospectively analyzed data were referred by paediatric endocrinologists from eight major paediatric endocrine clinics throughout the country. Phenotypic characteristics included medical and family history, thyroid hormone levels and TSH levels before initiation of treatment with L-thyroxine, results of thyroid ultrasound at diagnosis, and the occurrence of hearing impairment. In patients with any kind of hearing loss, information on its type, grade and age of onset was obtained.

In the Czech Republic, neonatal screening for CH is provided in two screening laboratory centres. It uses dried blood spots taken from a heel prick on the fifth day after birth. From 1985 until 1995, it was based on the assessment of total thyroxine (tT4) by RIA. Since 1996 thyrotropin (TSH) levels have been measured by DELFIA (cut off level 15 mU/l). Between 1994 and 1996 both methods were used.

It is noteworthy that since 2002 every child with CH has been compulsorily screened for deafness with otoacoustic emissions testing (OAE). Before 2002, only children with clinically suspected hearing loss were investigated using OAE, auditory

brainstem response (ABR) or pure tone audiometry, depending on the child's age. Hearing loss was classified as absent (loss of 0-20 dB), mild (20-40 dB), moderate (40-60 dB), severe (60-80dB), or profound (>80 dB).

Molecular studies

The testing was approved by the Ethics committee of the Third Faculty of Medicine, Charles University, Prague. The subjects or their legal guardians gave their written informed consent. DNA was obtained using standard methods from blood, or from saliva samples collected into the Oragene DNA Self-Collection Kits (DNA Genotec Inc, Ontario, Canada). All 21 exons of the *PDS/SLC26A4* gene and their flanking intron-exon junctions were amplified and directly sequenced using primers and PCR conditions as described by Borck *et al* (7) with further modifications. All mutations were confirmed by bi-directional sequencing.

Further examination of subjects with mutations and their families

Available relatives of probands with *PDS/SLC26A4* mutations were tested for the presence of the respective mutation. In subjects carrying mutations in the *PDS/SLC26A4* gene, the presence of enlarged vestibular aqueduct was investigated by high-resolution CT of temporal bones in coronal and axial planes (1 mm-contiguous sections). The vestibular aqueduct was considered enlarged when its diameter at the midpoint between the common crus and the external aperture was ≥ 1.5 mm on thin CT sections (32).

Results

Ten individuals with combined thyroid and hearing impairment were identified among the 197 patients with screening-detected CH. Three of them fulfilled clinical criteria of Pendred syndrome - thyroid dyshormonogenesis (CH with normal or enlarged thyroid volume) and sensorineural hearing loss. The characteristics of the patients are listed in Table 1. In the remaining seven patients CH developed due to thyroid dysgenesis, therefore the diagnosis of Pendred syndrome was very unlikely. Moreover, in four of these seven children, the hearing loss was not sensorineural but conductive.

The three subjects (two females, one male) with CH and clinically defined Pendred syndrome were analysed for mutations in *PDS/SLC26A4* gene. All three were born to unrelated parents of Czech Caucasian origin. Sequence analysis of 21 *PDS/SLC26A4* exons showed mutations in two of the three subjects. A total of four mutations were identified, two of them not previously reported. Additionally, an intronic variant was found in one patient. Mutations were classified according to the nomenclature recommendations, with the A of the ATG of the initiator Met codon denoted as +1 (3).

Table 1. Summary of clinical and molecular features of the three patients with clinical diagnosis of Pendred syndrome

Patient No.	1	2	3
Age at investigation	12y	17y	14y
Sex	F	M	F
Thyroid hormone status (screening result)	subclinical hypothyroidism TSH 71mIU/L tT ₄ 114 nmol/L	hypothyroidism TSH 38 mIU/L tT ₄ 9 nmol/L	hypothyroidism TSH 150 mIU/L tT ₄ 15 nmol/L
Thyroid ultrasound after birth	goitre V= 2.5 ml	goitre V= 2ml	normal V=0.73ml
Onset of hypothyroidism	congenital	congenital	congenital
Type and degree of hearing impairment	sensorineural profound	sensorineural profound	sensorineural moderate
Onset of Hearing impairment	4y	1,5y	5y
HR-CT of temporal bones	enlarged vestibular aqueduct bilaterally	not performed	not performed
Allele 1	c.2089+1G>A (c.IVS18+1G>A)	p.Val422Asp (c.1265T>A)	wt
Allele 2	c.3G>C	p.Tyr530His (c.1588T>C)	wt

Patient 1 (female, aged 12 years at the time of investigation) was found to be a compound heterozygote for one already published mutation in the splice site of intron 18 (c.2089+1G>A = c.IVS18+1G>A) (6) and for a novel mutation in the start codon of the gene in exon 2 (c.3G>C, Fig.1). She was diagnosed as subclinically hypothyroid at birth in the frame of the CH–TSH screening. The screening level of TSH was elevated to 71 mU/L (cut off 15 mU/L) although the tT₄ level was normal (114 nmol/L, normal range 77-154). The thyroid ultrasound at diagnosis revealed a diffuse goitre

(thyroid volume 2.5 ml, own normative data for age and sex 0.55 ± 0.14 ml). L-thyroxine administration was started on the 14th day of life. Under T4 substitution the goitre remained unchanged, despite euthyroid status. Sensorineural hearing loss was firstly recognised at the age of four years. At her current age of 12 years, she suffers from severe hearing loss of 70 dB at both ears and uses binaural hearing aids. The high-resolution CT of the temporal bones revealed an enlargement of the vestibular aqueduct bilaterally.

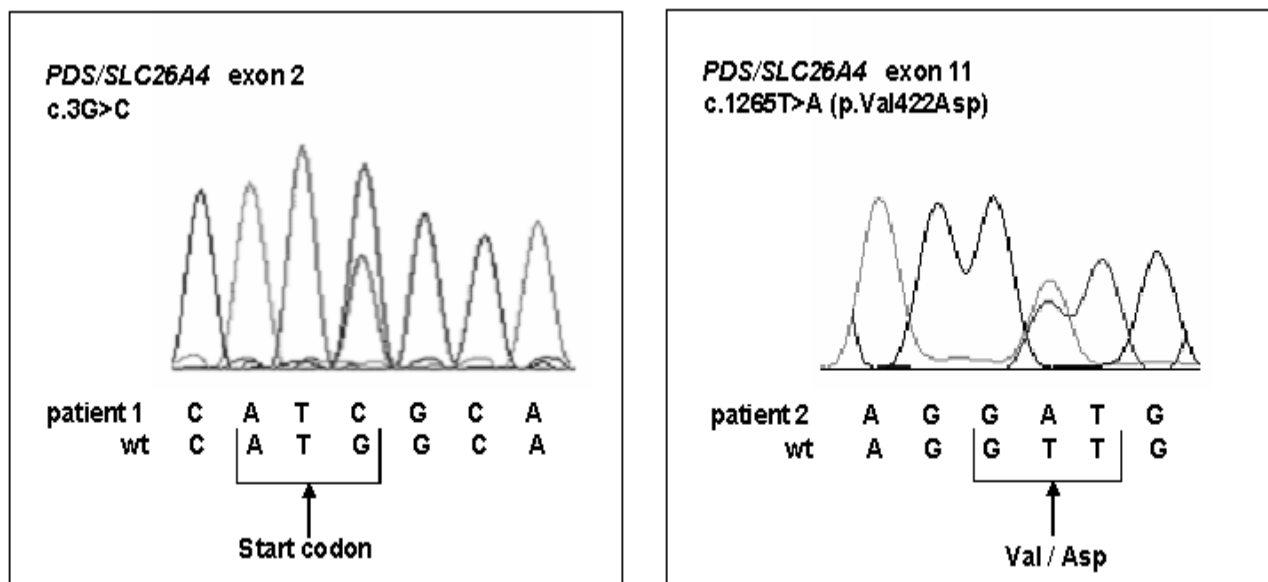


Figure 1. Sequence analysis of the two novel *PDS/SLC26A4* mutations described in patient 1 (c.3G>C) and patient 2 (p.Val422Asp)

The proband's sister is 10 years old. She was found to carry identical mutations as the index patient both in intron 18 and exon 2. She is deaf-mute due to profound sensorineural hearing loss of 120 dB in the right and 110 dB in the left ear, diagnosed prelingually. She also wears binaural hearing aids. Her thyroid status was

first examined at the age of 10 years. The fT4 and TSH levels were normal (fT4 15.38 pmol/L, normal range 10.5-27, TSH 2.8 mU/L, normal range 0.34-5.5). The thyroid ultrasound revealed a mild diffuse goitre (thyroid volume 11 ml, upper normal range of own normative data for age and sex 9 ml). Bilateral enlargement of the vestibular aqueduct was found on high-resolution CT scan.

Their mother was found to be a heterozygous carrier of the splice site mutation in intron 18. Although she was originally reported to be deaf, further investigation revealed just a mild conductive hearing loss of the left ear, probably due to several episodes of otitis media during her childhood. Her thyroid function tests and ultrasound were normal (fT4 17.03 pmol/L, TSH 0.872 mIU/L, thyroid volume 14.4 ml). A younger brother of the two sisters inherited the maternal intronic mutation in a heterozygous pattern. The father, potential carrier of the mutation in exon 2, was not available for the molecular study. He is reported to be clinically unaffected. Parents are unrelated (Pedigree of the family - Figure 2).

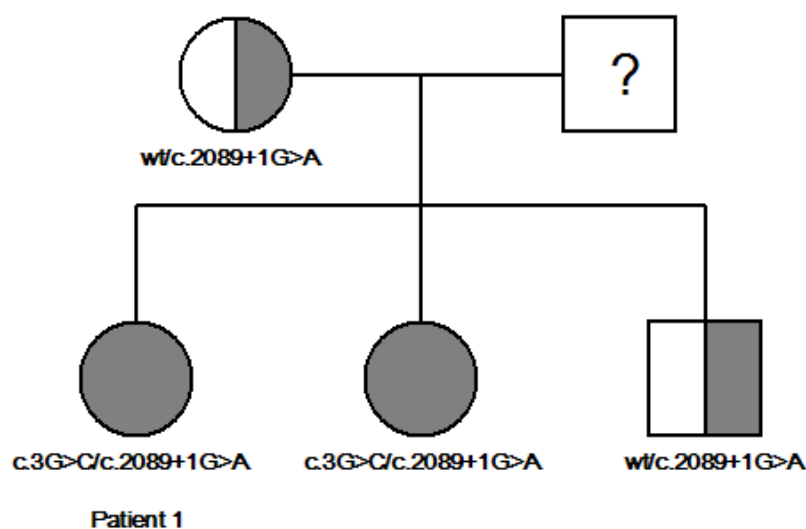


Figure 2. Pedigree - family of patient 1. The two sisters inherited identical mutations in both exon 2 and intron 18. The younger brother and the mother were found to be heterozygote carriers of the intronic mutation. The father, a potential carrier of the exonic mutation, was not available for the genetic investigation.

Patient 2 (male, aged 17 years at the time of investigation). One allele of his *PDS/SLC26A4* gene harboured a previously described transversion c.1588T>C in exon 14 resulting in a substitution of tyrosine for histidine in position 530 (p.Tyr530His) (6, 10). The second allele is a novel missense mutation in exon 11 - c.1265T>A - leading to substitution of valine for aspartate in codon 422 (p.Val422Asp, Fig.1). Additionally, so far not reported intronic variant deep in the intron 9 (c.IVS9-139T>C) was found.

His thyroid disease was diagnosed at birth. The screening level of tT4 was 9 nmol/L and his TSH was elevated to 38 mU/L. A diffuse thyroid enlargement of 2 ml (own normative data for age and sex 0.55 ± 0.18 ml) was found at birth by ultrasound. Substitution therapy was started on day 15. The follow-up evaluation during therapy revealed a euthyroid state leading to a decrease of his thyroid volume to normal by the age of ten years. The boy suffered from a prelingual, profound bilateral hearing loss, first recognised at the age of 1.5 years using the ABR method. It revealed a loss of 110 dB at the left and 100 dB at the right ear. Further audiometric investigation showed no further deterioration. He uses binaural hearing aids. The high-resolution CT of temporal bones was not performed. As the child was adopted by new parents soon after birth, family history is not known.

In patient 3 (female, aged 14 years at the time of investigation) sequencing of the *PDS/SLC26A4* gene revealed no mutations. She presented with CH (screening level of tT4 15 nmol/L, TSH 150 mU/L). The first ultrasound revealed thyroid volume in the upper normal range (0.73 ml, own normative data for age and sex 0.55 ± 0.14 ml). L-thyroxine administration was started at the age of 17 days. Further follow-up examination revealed decreasing thyroid volume. A moderate non-progressive hearing loss of 50 dB bilaterally was recognised at five years of age. No hearing loss was recorded in any of her family members. Her paternal aunt was reported to have a goitre. In an attempt to disclose the reason for the hearing loss, direct sequencing of the *GJB2/connexin26* gene was performed in the index patient but revealed no mutations.

Discussion

We here report a study on genetically confirmed Pendred syndrome with thyroid disease manifested as CH. Collecting a cohort of 197 children with CH diagnosed by neonatal screening over the last 21 years in the Czech Republic gave us a unique opportunity to a) investigate the proportion of children who developed hearing loss, b) to find out in how many children the association of hearing loss and CH is caused by Pendred syndrome and c) to establish the frequency of mutations in the *PDS/SLC26A4* gene as one of the candidate genes for CH in our patients.

Mutations in PDS/SLC26A4 as a cause of deafness in CH

Making a retrospective investigation we found that among 197 children with CH ten developed hearing loss later in life. Deafness is known to be one of the frequently associated noticeable features of congenital thyroid disease (11). It has been estimated that hereditary hearing loss with hypothyroidism accounts for 1-10% of all hereditary deafness (5). This is reflected in clinical guidelines that recommend that every child with CH is screened for hearing loss with the otoacoustic emissions method (OAE) until the age of 3 months. Most cases of deafness in CH are secondary, caused by the lack of thyroid hormones that are necessary for the normal development of the peripheral and central auditory system (17). This is in agreement with histological findings in CH animals, where an immature development of the organ of Corti including hair cells and tectorial membrane has been observed (4, 31). However, sensorineural hearing loss developing in children with CH due to dyshormonogenesis may be also a manifestation of Pendred syndrome. A detailed

clinical evaluation can be very helpful in recognizing these cases. In our study, from ten children with CH and hearing loss two were identified to have hearing loss due to Pendred syndrome. One child who fulfilled the clinical criteria but was without mutations in the *PDS/SLC26A4* gene was concluded a phenocopy and the cause of the association of sensorineural hearing loss and thyroid disease remained unclear. Because congenital deafness is relatively common, affecting 1 of 2000 newborns (20), and more than 50 different genes have been found to be involved (30), the origin of hearing loss in this case may be on account of mutations in other deafness genes and the association with CH may be coincidental. For this reason we additionally tested this patient for mutations in the *GJB2/connexin26* gene, which is the most common cause of congenital sensorineural deafness (28), but did not find any mutations.

Mutations in PDS/SLC26A4 as a cause of CH

The second aspect of our study was the identification of mutations in the *PDS/SLC26A4* gene as one of the candidate genes for CH due to thyroid dyshormonogenesis. CH with goitre or a normal sized thyroid gland is a heterogeneous group accounting for approximately 20% of all CH cases. Until now, several candidate genes associated with thyroid dyshormonogenesis have been identified including those for thyroid peroxidase (*TPO*), thyroglobulin (*TG*), sodium-iodide symporter (*NIS*), pendrin and more recently thyroid oxidase 2 (*THOX2*) (15). Although the exact proportion have not been assessed, defects in the *TPO* gene have been estimated to be the most prevalent cause of thyroid dyshormonogenesis (1, 16), probably followed by mutations in *TG*. Defects in the remaining candidate

genes including *PDS* seem to be less frequent. This notion is supported by the fact that we identified only 2/197 cases of CH (1.0%, CI95%: 0.31% - 3.6%), caused by mutations in the *PDS/SLC26A4* gene.

Manifestation of thyroid disease in Pendred syndrome

Finally, an additional goal of our study was to find out in how many cases of Pendred syndrome can be diagnosed right after birth as they manifest as CH. As previously described in several studies, the thyroid disease in Pendred syndrome is phenotypically highly variable. It can develop at any age from birth to adulthood, showing the highest occurrence during the second decade of life (70%) (21). However, single cases of Pendred syndrome manifested as CH have been previously reported (6, 7, 18, 21). To our best knowledge, just one study was designed to assess the incidence of Pendred syndrome among children with screening-detected CH. Among 213 children with CH, Coakley *et al* (8) reported five patients with the clinical diagnosis of Pendred syndrome, representing an incidence of 1 in 153 000 births. As this study was conducted before genetic testing became available, the diagnosis was based solely on clinical symptoms and therefore some of these subjects might represent phenocopies. Finding only two cases of true Pendred syndrome in our group of CH patients indicates that the thyroid disease in Pendred syndrome indeed can be diagnosed by neonatal screening, but the manifestation in the newborn age is rare and that screening for CH alone is not sufficient to identify the disorder and will maintain significant underascertainment.

Heterogeneity of mutations in PDS

After the identifications of the *PDS/SLC26A4* gene in 1997 (12), more than 100 different mutations have been identified scattered all over the gene, of which the majority are missense substitutions (6, 10, 18). Several mutations have been also functionally characterized showing a loss-of-function effect, e.g. on the base of an impaired iodide transport capacity of the mutant protein (26). However, clear genotype-phenotype correlations have not been found. The present study reports the clinical picture of two patients, each carrying one already known and one novel mutation in the *PDS/SLC26A4* gene. Both novel mutations can be expected to result in the impairment of pendrin function. In particular, the *c.3G>C* mutation affecting the start codon of the gene may activate another cryptic start codon located at base position 61, which makes it likely that the protein will be truncated of the first 20 amino acids. The other so far not reported mutation is a transversion T>C in position 1588 leading to a substitution of valine for aspartate in codon 422 (*p.Val422Asp*). According to the model of the gene proposed by Everett *et al* (12), this mutation lies in the extracellular loop between the ninth and the tenth transmembrane domain of pendrin, where other pathogenetic mutations have been already identified (6, 10). The alignment of the *PDS/SLC26A4* sequence and two highly homologous human genes, *DRA* (down-regulated in adenoma) and *DTD* (diastrophic dysplasia) (12), also indicates that the mutation affects a conserved amino acid. Moreover, the affection of the protein function can be also predicted since the mutation changes an uncharged and neutral amino acid (valine) for a highly acidic and negatively charged amino acid (aspartate).

Conclusions

Pendred syndrome appears to be a rare cause of CH. However, this diagnosis should be taken into consideration whenever a child with CH due to dysmorphogenesis develops sensorineural hearing loss, and these individuals should undergo molecular-genetic analysis of the *PDS/SLC26A4* gene.

Acknowledgements

We wish to thank Prof. J. Pohlenz and colleagues, Hospital of the Johannes Gutenberg University, Mainz, Germany for providing us with the currently used primer sequences and PCR conditions. We are grateful to L. Cerny, M. Finkova, R. Havlik, V. Janstova, J. Klabochova, E. Novakova, R. Pomahacova, M. Skacha, J. Skvor, H. Vavrova, J. Venhacova and J. Zikmund for their assistance in clinical evaluations. K. Rakova is acknowledged for expert technical assistance. We also thank Prof. C. J. H. Kelnar and Prof. G. Van Vliet for a critical review of the manuscript. The cooperation of the patients and their families is greatly appreciated.

References

1. Abramowicz MJ, Targovnik HM, Varela V, Cochaux P, Krawiec L, Pisarev MA, Propato FV, Juvenal G, Chester HA, Vassart G (1992) Identification of a mutation in the coding sequence of the human thyroid peroxidase gene causing congenital goiter. *J Clin Invest* 90: 1200-1204.
2. Al Taji E, Biebermann H, Limanova Z, Hnikova O, Zikmund J, Dame C, Gruters A, Lebl J, Krude H (2007) Screening for mutations in transcription factors in a Czech cohort of 170 patients with congenital and early-onset hypothyroidism: identification of a novel PAX8 mutation in dominantly inherited early-onset non-autoimmune hypothyroidism. *Eur J Endocrinol* 156: 521-529.
3. Antonarakis SE (1998) Recommendations for a nomenclature system for human gene mutations. Nomenclature Working Group. *Hum Mutat* 11: 1-3.
4. Bargman GJ, Gardner LI (1967) Otic lesions and congenital hypothyroidism in the developing chick. *J Clin Invest* 46: 1828-1839.
5. Batsakis JG, Nishiyama RH (1962) Deafness with sporadic goiter. Pendred's syndrome. *Arch Otolaryngol* 76: 401-406.
6. Blons H, Feldmann D, Duval V, Messaz O, Denoyelle F, Loundon N, Sergout-Allaoui A, Houang M, Duriez F, Lacombe D, Delobel B, Leman J, Catros H, Journel H, Drouin-Garraud V, Obstoy MF, Toutain A, Oden S, Toublanc JE, Couderc R, Petit C, Garabedian EN, Marlin S (2004) Screening of SLC26A4 (PDS) gene in Pendred's syndrome: a large spectrum of mutations in France and phenotypic heterogeneity. *Clin Genet* 66: 333-340.

7. Borck G, Roth C, Martine U, Wildhardt G, Pohlenz J (2003) Mutations in the PDS gene in German families with Pendred's syndrome: V138F is a founder mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 2916-2921.
8. Coakley JC, Keir EH, Connelly JF (1992) The association of thyroid dysmorphogenesis and deafness (Pendred syndrome): experience of the Victorian Neonatal Thyroid Screening Programme. *J Paediatr Child Health* 28: 398-401.
9. Coyle B, Coffey R, Armour JA, Gausden E, Hochberg Z, Grossman A, Britton K, Pembrey M, Reardon W, Trembath R (1996) Pendred syndrome (goitre and sensorineural hearing loss) maps to chromosome 7 in the region containing the nonsyndromic deafness gene DFNB4. *Nat Genet* 12: 421-423.
10. Coyle B, Reardon W, Herbrick JA, Tsui LC, Gausden E, Lee J, Coffey R, Grueters A, Grossman A, Phelps PD, Luxon L, Kendall-Taylor P, Scherer SW, Trembath RC (1998) Molecular analysis of the PDS gene in Pendred syndrome. *Hum Mol Genet* 7: 1105-1112.
11. Debruyne F, Vanderschueren-Lodeweyckx M, Bastijns P (1983) Hearing in congenital hypothyroidism. *Audiology* 22: 404-409.
12. Everett LA, Glaser B, Beck JC, Idol JR, Buchs A, Heyman M, Adawi F, Hazani E, Nassir E, Baxevanis AD, Sheffield VC, Green ED (1997) Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (PDS). *Nat Genet* 17: 411-422.
13. Fraser GR (1965) Association of Congenital Deafness with Goitre (Pendred's Syndrome) a Study of 207 Families. *Ann Hum Genet* 28: 201-249.

14. Gaudino R, Garel C, Czernichow P, Leger J (2005) Proportion of various types of thyroid disorders among newborns with congenital hypothyroidism and normally located gland: a regional cohort study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 62: 444-448.
15. Gillam MP, Kopp P (2001) Genetic defects in thyroid hormone synthesis. *Curr Opin Pediatr* 13: 364-372.
16. Mangklabruks A, Billerbeck AE, Wajchenberg B, Knobel M, Cox NJ, DeGroot LJ, Medeiros-Neto G (1991) Genetic linkage studies of thyroid peroxidase (TPO) gene in families with TPO deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 72: 471-476.
17. Meyerhoff WL (1979) Hypothyroidism and the ear: electrophysiological, morphological, and chemical considerations. *Laryngoscope* 89: 1-25.
18. Napiontek U, Borck G, Muller-Forell W, Pfarr N, Bohnert A, Keilmann A, Pohlenz J (2004) Intrafamilial variability of the deafness and goiter phenotype in Pendred syndrome caused by a T416P mutation in the SLC26A4 gene. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 5347-5351.
19. Phelps PD, Coffey RA, Trembath RC, Luxon LM, Grossman AB, Britton KE, Kendall-Taylor P, Graham JM, Cadge BC, Stephens SG, Pembrey ME, Reardon W (1998) Radiological malformations of the ear in Pendred syndrome. *Clin Radiol* 53: 268-273.
20. Reardon W (1992) Genetic deafness. *J Med Genet* 29: 521-526.
21. Reardon W, Coffey R, Chowdhury T, Grossman A, Jan H, Britton K, Kendall-Taylor P, Trembath R (1999) Prevalence, age of onset, and natural history of thyroid disease in Pendred syndrome. *J Med Genet* 36: 595-598.

22. Reardon W, Coffey R, Phelps PD, Luxon LM, Stephens D, Kendall-Taylor P, Britton KE, Grossman A, Trembath R (1997) Pendred syndrome--100 years of underascertainment? *Qjm* 90: 443-447.
23. Reardon W, Trembath RC (1996) Pendred syndrome. *J Med Genet* 33: 1037-1040.
24. Royaux IE, Belyantseva IA, Wu T, Kachar B, Everett LA, Marcus DC, Green ED (2003) Localization and functional studies of pendrin in the mouse inner ear provide insight about the etiology of deafness in pendred syndrome. *J Assoc Res Otolaryngol* 4: 394-404.
25. Royaux IE, Suzuki K, Mori A, Katoh R, Everett LA, Kohn LD, Green ED (2000) Pendrin, the protein encoded by the Pendred syndrome gene (PDS), is an apical porter of iodide in the thyroid and is regulated by thyroglobulin in FRTL-5 cells. *Endocrinology* 141: 839-845.
26. Scott DA, Wang R, Kreman TM, Andrews M, McDonald JM, Bishop JR, Smith RJ, Karniski LP, Sheffield VC (2000) Functional differences of the PDS gene product are associated with phenotypic variation in patients with Pendred syndrome and non-syndromic hearing loss (DFNB4). *Hum Mol Genet* 9: 1709-1715.
27. Scott DA, Wang R, Kreman TM, Sheffield VC, Karniski LP (1999) The Pendred syndrome gene encodes a chloride-iodide transport protein. *Nat Genet* 21: 440-443.
28. Seeman P, Malikova M, Raskova D, Bendova O, Groh D, Kubalkova M, Sakmaryova I, Seemanova E, Kabelka Z (2004) Spectrum and frequencies of

- mutations in the GJB2 (Cx26) gene among 156 Czech patients with pre-lingual deafness. *Clin Genet* 66: 152-157.
29. Sheffield VC, Kraiem Z, Beck JC, Nishimura D, Stone EM, Salameh M, Sadeh O, Glaser B (1996) Pendred syndrome maps to chromosome 7q21-34 and is caused by an intrinsic defect in thyroid iodine organification. *Nat Genet* 12: 424-426.
30. Steel KP, Bussoli TJ (1999) Deafness genes: expressions of surprise. *Trends Genet* 15: 207-211.
31. Uziel A, Gabrion J, Ohresser M, Legrand C (1981) Effects of hypothyroidism on the structural development of the organ of Corti in the rat. *Acta Otolaryngol* 92: 469-480.
32. Valvassori GE, Clemis JD (1978) The large vestibular aqueduct syndrome. *Laryngoscope* 88: 723-728.

Studie, část 1 - diskuze

Cílení studie Pendredova syndromu na pacienty s vrozenou hypotyreózou diagnostikovanou novorozeneckým screeningem přineslo několik nových poznatků o tomto onemocnění.

Design studie umožnil

- zjistit podíl pacientů s kongenitální hypotyreózou u kterých se v průběhu života projevila porucha sluchu,
- zjistit, u jaké části pacientů je asociace kongenitální hypotyreózy a poruchy sluchu ve skutečnosti způsobena Pendredovým syndromem, tj. mutací v genu pro pendrin,
- zjistit frekvenci mutací v *PDS/SLC26A4* genu u českých pacientů s kongenitální hypotyreózou na podkladě dyshormonogeneze, zachycenou novorozeneckým screeningem.

Mutace v *PDS/SLC26A4* genu jako příčina kongenitální hypotyreózy na podkladě dyshormonogeneze

Tyreoidální dyshormonogeneze je heterogenní porucha zodpovědná za cca 20% případů kongenitální hypotyreózy. V posledních desetiletích bylo identifikováno několik kandidátních genů - gen pro tyreoidální peroxidázu (*TPO*), tyreoglobulin (*TG*), natrium-jodidový symportér (*NIS*), pendrin a nejnověji i gen pro tyreoidální oxidázu 2 (*THOX2*) (Gillam a Kopp 2001, Park a Chatterjee 2005). I když přesný podíl těchto genetických defektů na dyshormonogenezi není doposud znám, dosavadní studie udávají jako nejčastější příčinu mutace v genu pro *TPO*, následované defektem *TG* (Abramowicz et al. 1992, Manklabrucks et al. 1991). Nedostatkem předkládané

studie byla nemožnost získat a fenotypizovat všechny pacienty zachycené novorozeneckým screeningem v České republice v letech 1985 – 2005, protože DNA banka z nich podchytila jen část. Nebylo tedy možné vypočítat prevalenci Pendredova syndromu v této skupině pacientů. I přesto však záchyt pouze dvou pacientů s geneticky prokázaným Pendredovým syndromem ve skupině 197 probandů jednoznačně dokumentuje, že onemocnění je jen velmi vzácnou příčinou kongenitální hypotyreózy a podporuje výše uvedené studie o větším podílu ostatních kandidátních genů na tyreoidální dys hormonogenezi. Na druhé straně však nelze opominout skutečnost, že postižení štítné žlázy se u Pendredova syndromu většinou manifestuje v pozdějším věku a záchyt onemocnění na podkladě novorozeneckého screeningu kongenitální hypotyreózy je i v literatuře popisován ojediněle, na což poukazuje i naše studie.

Mutace v *PDS/SLC26A4* genu jako příčina poruchy sluchu u pacientů s kongenitální hypotyreózou

Je známo, že nedoslýchavost je nejčastější sdruženou funkční vrozenou vadou u dětí s kongenitální hypotyreózou (Debruyne et al. 1983). Na druhé straně, hypotyreóza je dle různých studií odpovědná za 1-10% všech vrozených poruch sluchu (Batsakis et Nishiyama 1962). S ohledem na tyto skutečnosti bylo zavedeno povinné vyšetření sluchu metodou otoakustických emisí (OAE), které se provádí u všech dětí s kongenitální hypotyreózou do věku 3 měsíců (v České republice od roku 2002). Příčiny asociace hluchoty a hypotyreózy mohou být různé. Většina případů je sekundárních, tj. způsobených chyběním tyreoidálních hormonů, které jsou nezbytné pro normální vývoj centrálního a periferního sluchového aparátu (Meyerhoff 1979). U

myši s kongenitální hypotyreózou histologický nález opakovaně prokázal odchylky ve vývoji Cortiho orgánu, vláskových buněk či tektoriální membrány vnitřního ucha (Bargman a Gardner 1967, Uziel et al. 1981). Asociace také může být zcela náhodná, způsobená koincencí obou poruch bez společného jmenovatele. V jiných případech se však může jednat o manifestaci Pendredova syndromu a postižení sluchu a štítné žlázy mohou být důsledkem mutace v genu pro pendrin, který se exprimuje v obou orgánech. Rozpoznání správné etiologie není jednoduché. Důležitá je však detailní fenotypická charakterizace pacienta, zejména rozlišení, jedná-li se o pacienta s dys hormonogenezí nebo tyreoidální dysgenezí a o percepční nebo převodní poruchu sluchu. Pro samotného pacienta je stanovení správné diagnózy důležité zejména vzhledem k prognóze a predikci dalšího vývoje onemocnění. V předkládané studii byla porucha sluchu nalezena u deseti z celkového počtu 197 pacientů s kongenitální hypotyreózou zachycenou novorozeneckým screeningem. Většinou se však jednalo o pacienty s dysgenezí štítné žlázy, kteří proto nesplňovali klinická kritéria Pendredova syndromu, nebo o pacienty s převodní poruchou sluchu. Známky tyreoidální dys hormonogeneze spolu se senzineurální poruchou sluchu byly nalezeny pouze u tří pacientů a Pendredův syndrom jsme geneticky prokázali u dvou z nich. Frekvence poruchy sluchu způsobená defektem pendrinu je tedy u dětí s kongenitální hypotyreózou významně nižší než frekvence poruchy sluchu jiné etiologie.

Heterogenita mutací v *PDS/SLC26A4* genu

Dalším přínosem naší studie byla identifikace dvou nových, doposud nepopsaných mutací v *PDS/SLC26A4* genu - c.3G>C ve startovacím kodonu genu v exonu 2 a

c.1265T>A (= p.Val422Asp) v exonu 11. U obou mutací lze předpokládat jejich negativní dopad na funkci pendrinu. U mutace c.3G>C pravděpodobně dojde k posunu začátku translace a aktivaci nového startovacího kodonu, který se nachází na pozici 61. báze, čímž se celý protein zkrátí o přibližně 20 aminokyselin. Druhá mutace se dle modelu navrženého skupinou Everetta (Everett et al. 1997) nachází v extracelulární smyčce mezi devátou a desátou transmembránovou doménou, což je oblast, ve které již byly identifikovány jiné, funkci pendrinu ovlivňující mutace (Blons et al. 2004, Coyle et al. 1998). Další dvě ve studii nalezené mutace - c.IVS18+1G>A (=c.2089+1G>A) ve „splice site“ intronu 18 a p.Tyr530His (=c.1588T>C) ve exonu 14 – byly již opakovaně popsány (Blons et al. 2004, Coyle et al. 1998).

Studie, část 2 - úvod

Genetická studie Pendredova syndromu u pacientů s kongenitální hypotyreózou detekovanou novorozeneckým screeningem nebo postnatální neautoimunitní hypotyreózou manifestující se v dětství

Ve druhé části jsme studii rozšířili o pacienty s non-autoimunitní hypotyreózou, kteří nebyly zachyceni novorozeneckým screeningem, ale hypotyreóza se u nich manifestovala v pozdějším dětském věku. Tyto pacienty jsme získali jednak z vedlejší části DNA banky kongenitální hypotyreózy, jednak přímo od českých a slovenských endokrinologů dětského i dospělého věku, kterým jsme nabídli spolupráci při molekulárně-genetickém vyšetření jejich pacientů s klinickou diagnózou Pendredova syndromu.

Druhou část studie jsme publikovali v článku v Časopisu Lékařů Českých (přijat do tisku), ve kterém jsme shrnuli kazuistiky všech vyšetřovaných pacientů a který se zabývá zejména fenotypickou variabilitu projevů mutací genu pro pendrin a výskytem fenokopí (článek III, přijat do tisku).

Studie, část 2 - článek III

**Pendredův syndrom u pacientů s hypotyreózou: genetická diagnostika,
fenotypová variabilita a výskyt fenokopii**

**Pendred syndrome among patients with hypothyroidism: genetic diagnosis,
phenotypic variability and occurrence of phenocopies**

Banghová K.¹, Al Taji E.², Novotná D.³, Zapletalová J.⁴, Hníková O.², Čáp J.⁵,
Klabochová J.⁶, Kúšková M.⁷ a Lebl J.¹

¹Pediatrická klinika UK 2. LF a FN Motol, Praha, ČR

²Klinika dětí a dorostu UK 3. LF a FN KV, Praha ČR

³II. dětská klinika LF MU a FN Brno, Brno, ČR

⁴Dětská klinika LF UP a FN Olomouc, Olomouc, ČR

⁵2. Interní klinika FN Hradec Králové, Hradec Králové, ČR

⁶Nemocnice u Sv. Jiří, Plzeň, ČR

⁷Detská Fakultná Nemocnica Košice, Košice, SR

Původní práce, Čas. Lék. Čes. *In Press*.

Problematika řešena s podporou výzkumného záměru MSM 0021620814.

Abstrakt

Východisko: Pendredův syndrom (OMIM274600) je jednou z příčin kongenitální hypotyreózy na podkladě dys hormonogeneze. Jedná se o autozomálně recesivní onemocnění definované jako asociace sensorineurální hluchoty a dys hormonogenetické strumy. Onemocnění je způsobeno mutacemi v *PDS/SLC26A4* genu kódujícím pendrin - aniontový transportér, který je exprimován hlavně ve štítné žláze a vnitřním uchu. Dys hormonogeneze se u Pendredova syndromu projeví jen u 80 % pacientů jako eutyroidní nebo hypotyreoidní struma a jen zřídka je klinicky významná již při narození, kdy může být diagnostikována novorozeneckým screeningem.

Cílem naší studie bylo identifikovat pacienty s klinickou diagnózou Pendredova syndromu mezi dětmi s vrozenou nebo postnatálně vzniklou non-autoimunitní hypotyreózou a následně diagnózu potvrdit nalezením mutací v genu pro pendrin.

Metody a výsledky: Vyšetřili jsme 236 dětí s hypotyreózou zjištěnou novorozeneckým screeningem nebo později v dětství. Klinická diagnóza Pendredova syndromu byla založena na laboratorních a sonografických známkách tyreoidální dys hormonogeneze (vysoké TSH, nízké T4/fT4, struma nebo normální velikost štítné žlázy) ve spojení se sensorineurální poruchou sluchu. U pacientů s klinickou diagnózou Pendredova syndromu bylo přímou sekvenací vyšetřeno všech 21 exonů a přilehlých intronových úseků *PDS/SLC26A4* genu. Z 236 dětí splňovalo diagnostická kritéria Pendredova syndromu devět. Molekulárně-genetické vyšetření *PDS/SLC26A4* genu prokázalo složeně heterozygotní nosičství mutací u čtyř pacientů, ostatních pět bylo uzavřeno jako fenokopie Pendredova syndromu.

Závěry: Naše studie potvrzuje vysokou fenotypovou variabilitu postižení štítné žlázy u pacientů s Pendredovým syndromem a poukazuje na potřebnost genetického vyšetření k potvrzení klinické diagnózy vzhledem k častému výskytu fenokopií. Z endokrinologického hlediska však má molekulárně-genetické vyšetření genu pro pendrin smysl zřejmě jen u pacientů s vrozenou hypotyreózou na podkladě dyshormonogeneze, která je spojena se středně těžkou až těžkou sensorineurální poruchou sluchu.

Klíčová slova

Kongenitální hypotyreóza · dyshormonogeneze · pendrin · *SLC26A4* · Pendredův syndrom

Abstract

Background: Pendred syndrome (OMIM274600) is one of the causes of congenital hypothyroidism due to thyroid dyshormonogenesis. It is an autosomal recessive disease classically characterized by dyshormonogenetic goitre and sensorineural deafness. It is caused by mutations in *PDS/SLC26A4* gene encoding pendrin – an anion transporter, mostly expressed in the thyroid gland and the inner ear. The thyroid impairment in Pendred syndrome develops only in 80% of affected individuals in form of a euthyroid or hypothyroid goitre, which is rarely present at birth, when it can be diagnosed by the neonatal screening for congenital hypothyroidism.

Aim: The study was aimed to identify patients with Pendred syndrome among children with congenital or postnatal non-autoimmune hypothyroidism and subsequently confirm the diagnosis by finding mutations in the *PDS/SLC26A4* gene.

Methods and results: We examined two-hundred thirty-six Caucasians with hypothyroidism diagnosed by screening or developing later in childhood. The clinical diagnosis of Pendred syndrome was based on the laboratory and ultrasonographic signs of thyroid dyshormonogenesis (elevated TSH, low T4/FT4, goitre or normal thyroid volume) in association with sensorineural hearing loss. In subjects clinically diagnosed as Pendred syndrome, we sequenced all 21 exons of the *PDS/SLC26A4* gene and their flanking intron-exon junctions. Among 236 children, nine fulfilled the diagnostic criteria of Pendred syndrome. In four, the diagnosis was confirmed by identification of mutations in the *PDS/SLC26A4* gene, the remaining five patients were concluded phenocopies.

Conclusions: Our study confirms the high phenotypic variability of thyroid impairment in Pendred syndrome and underlines the necessity of a molecular-genetic investigation for establishing the diagnosis in regard of the great number of phenocopies. However, from the endocrinologist's point of view, the genetic testing is only reasonable in patients with congenital hypothyroidism due to dyshormonogenesis in association with severe to profound sensorineural hearing loss.

Key words

Congenital hypothyroidism · dyshormonogenesis · pendrin · *SLC26A4* · Pendred syndrome

Úvod

Kongenitální hypotyreóza je nejčastější vrozenou endokrinní poruchou s frekvencí 1 : 3000 až 1 : 4000 novorozenců (1). Ve 20 – 25 % je její příčinou dyshormonogeneze, tj. porucha biosyntézy tyreoidálních hormonů, způsobená poruchou transportu jódu, jeho organifikace, poruchou syntézy tyreoglobulinu nebo poruchou dehalogenace (1). V posledních deseti letech byla objasněna molekulární podstata některých těchto poruch a narůstá počet známých genů, jejichž porucha může dyshormonogenezi způsobovat. Jedním z nich je gen pro pendrin, transmembránový protein s funkcí aniontového transportéru ve štítné žláze a ve vnitřním uchu (2). Je známý pod názvy *PDS* (Pendred syndrome gene) nebo *SLC26A4* (member 4 of solute carrier family 26) (3). Jeho mutace vedou ke klinickému obrazu Pendredova syndromu. Pendredův syndrom patří mezi méně časté příčiny tyreoidální dyshormonogeneze s poruchou organifikace jódu. Dědí se autozomálně recesivně a jeho incidence se odhaduje na 7,5-10 : 100 000 (4, 5, 6, 7).

Klinický obraz Pendredova syndromu je variabilní. Obvykle dominuje vrozená porucha sluchu, která se projeví v časném dětství a má sensorineurální (tj. percepční) charakter (4). Tato porucha je většinou oboustranná, někdy asymetrická a zpravidla těžká (> 60 dB). V průběhu života progreduje, ale tíže postižení může kolísat. Je provázena strukturálními malformacemi vnitřního ucha, které lze radiologicky prokázat. Nejčastější je rozšíření vestibulárního akvaduktu (EVA) spojené s dilatací membránového labyrintu (ductus a saccus endolymphaticus), méně často na CT spánkové kosti nacházíme tzv. Mondiniho kochleu (8).

Porucha funkce štítné žlázy je méně konstantním projevem Pendredova syndromu, a to jak inter-, tak intrafamiliárně. Důvodem této fenotypové variability mohou být zřejmě jak exogenní faktory (např. rozdílný příjem jódu ve stravě), tak rozdílný vliv jednotlivých mutací *PDS/SLC26A4* genu na funkci pendrinu nebo přítomnost jiných dosud neznámých kompenzačních mechanismů (např. jiných apikálních transportérů).

Dysfunkce štítné žlázy se proto u Pendredova syndromu projeví jenom u přibližně 80 % pacientů a to ve formě strumy, většinou eufunkční (9). Stejně jako u ostatních dyshormonogenetických strum, i v tomto případě je struma zprvu zpravidla difúzní, ale postupně podléhá nodulární přestavbě s rizikem maligní transformace. Některé studie uvádějí, že dyshormonogenetické strumy mají signifikantně vyšší výskyt folikulárních karcinomů než strumy jiné etiologie, což se vysvětluje chronickou stimulací folikulárních buněk zvýšenými hladinami tyreotropinu (10).

Jen asi 30 % pacientů s Pendredovým syndromem má subklinickou nebo manifestní hypotyreózu. Různorodý je i věk při prvním průkazu hypotyreózy – kolísá od narození až po dospělost, převažuje ale druhá dekáda života, zejména období kolem puberty (9). Jen v jednotlivých případech lze hypotyreózu diagnostikovat již novorozeneckým screeningem (9, 11).

Vzhledem k vyšší penetranci postižení sluchu než štítné žlázy vycházela většina dosavadních studií Pendredova syndromu ze souborů pacientů se sluchovou

poruchou. Cílem naší studie bylo identifikovat pacienty s Pendredovým syndromem a mutací v genu pro pendrin mezi pacienty s hypotyreózou a tím vytvořit nový pohled na toto onemocnění - z hlediska endokrinologa.

Pacienti a metody

Pacienti

Do studie jsme zahrnuli pacienty ze tří různých kohort. První a největší skupinu tvořilo 197 dětí a adolescentů s kongenitální hypotyreózou diagnostikovanou novorozeneckým screeningem v České republice v letech 1985 až 2005. Výsledky této části studie jsme již samostatně publikovali (12). Druhou skupinu 35 jedinců tvořilo pět pacientů s kongenitální hypotyreózou, narozených před zavedením screeningu, a 30 pacientů s hypotyreózou diagnostikovanou klinicky v pozdějším dětském věku. Třetí skupina představovala čtyři pacienty s klinickou diagnózou Pendredova syndromu, jejichž lékaři nás přímo požádali o molekulárně-genetické vyšetření. Jeden z nich byl diagnostikován novorozeneckým screeningem na Slovensku a u tří se hypotyreóza manifestovala klinicky v pozdějším věku.

U všech 236 probandů poskytl ošetřující lékař údaje o anamnéze, o ultrazvukovém vyšetření štítné žlázy před léčbou a během substituční léčby, o hladinách hormonů štítné žlázy, o poruše sluchu a věku při její diagnóze a o případném audiometrickém vyšetření. Pět pacientů z prvních dvou skupin splňovalo klinická kritéria pro diagnózu Pendredova syndromu – měli poruchu štítné žlázy na podkladě dyshormonogeneze

a současně sensorineurální poruchu sluchu. Spolu se čtyřmi pacienty ze třetí skupiny jsme tak pro molekulárně-genetické vyšetření *PDS/SLC26A4* genu měli k dispozici 9 pacientů s klinicky definovaným Pendredovým syndromem. Z nich čtyři byli zachyceni novorozeneckým screeningem a u pěti se hypotyreóza projevila v pozdějším věku. Jejich fenotypová a genotypová data shrnuje tab. 1.

Pacient	Pohlaví	Současný věk	Porucha štítné žlázy věk při diagnóze sonografie při dg. funkční vyšetření při dg.	Porucha sluchu věk při diagnóze klasifikace závažnost	Alela 1	Alela 2
1	Ž	13 let	SKH difúzní struma subklinická hypotyreóza	4 roky sensorineurální těžká	c.3G>C	c.2089+1G>A (c.IVS18+1G>A)
2	Ž	23 let	7 let difúzní struma klinická hypotyreóza	2 roky sensorineurální středně těžká	c.1246A>C (p.Thr416Pro)	c.1589A>C (p.Tyr530Ser)
3	M	17 let	SKH difúzní struma klinická hypotyreóza	1,5 roku sensorineurální velmi těžká	c.1588T>C (p.Tyr530His)	c.1265T>A (p.Val422Asp)
4	M	42 let	7 let struma ? hypotyreóza	2 roky sensorineurální ?	c.422G>T (p.Val138Phe)	c.1001+1G>A (c.IVS8+1G>A)
5	Ž	14 let	SKH normální štítná žláza klinická hypotyreóza	5 let sensorineurální střední	wt	wt
6	Ž	13 let	8 let difúzní struma subklinická hypotyreóza	6 let kombinovaná lehká	wt	wt
7	Ž	16 let	15 let asym. cystická struma subklinická hypotyreóza	3 roky sensorineurální velmi těžká	wt	wt
8	Ž	26 let	12 let difúzní struma klinická hypotyreóza	1 rok sensorineurální středně těžká	wt	wt
9	M	13 měsíců	SKH normální štítná žláza klinická hypotyreóza	3 měsíce ? ?	wt	wt

Tabulka 1. Fenotypová a genotypová charakteristika devíti pacientů s klinickou diagnózou Pendredova syndromu

Zkratky: SKH – screening kongenitální hypotyreózy, wt – wild type (mutace nenalezena)

Metody

DNA byla získána za pomoci standardizovaných metod z leukocytů periferní krve nebo ze slin sesbíraných do DNA Self-Collection Kits (DNA Genotec Inc, Ontario, Canada). 21 exonů a přilehlých intronových úseků *PDS/SLC26A4* genu bylo vyšetřeno metodou přímé sekvence. Použit byl kapilární sekvenátor ABI PRISM 310. Podmínky PCR a použité primery jsou publikovány ve studii Borck et.al. (13). Všechny nalezené mutace byly potvrzeny obousměrnou sekvenací.

U probandů s pozitivním nálezem mutací jsme dodatečně vyšetřili jejich dostupné rodinné příslušníky. Dále bylo u nich provedeno HR-CT pyramid se zaměřením na vestibulární akvadukt s cílem posoudit případné strukturální anomálie vnitřního ucha. Vestibulární akvadukt byl považován za rozšířený, pokud jeho průměr přesáhl 1,5 mm.

Etické aspekty

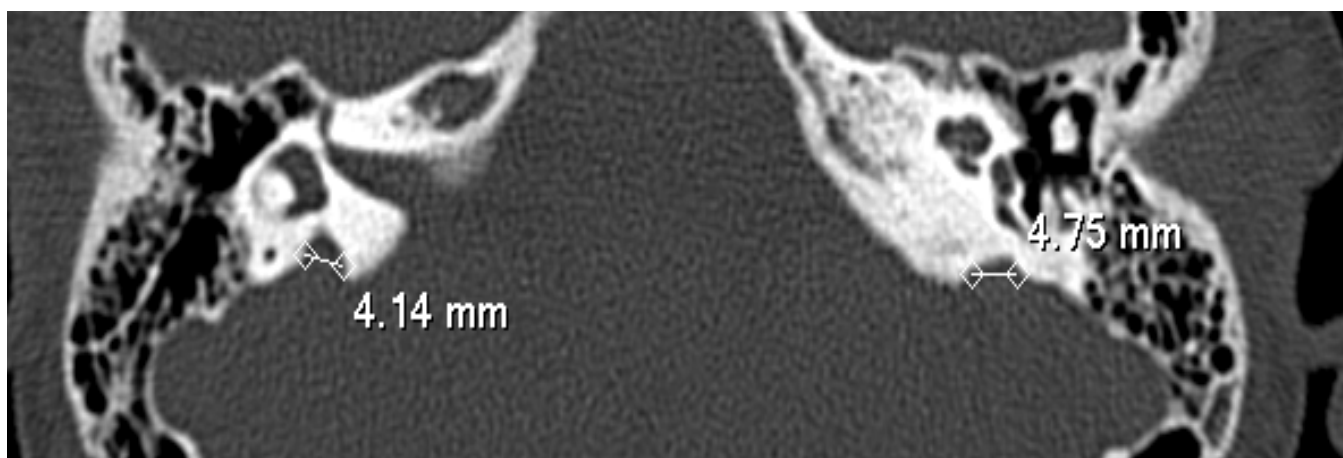
Studie byla schválena etickou komisí 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze. Pacienti nebo jejich zákonní zástupci potvrdili svůj souhlas s genetickým vyšetřením podpisem informovaného souhlasu.

Výsledky

Sekvenční analýzou *PDS/SLC26A4* genu jsme prokázali mutace u čtyř z devíti pacientů. U dvou z nich byla hypotyreóza diagnostikována novorozeneckým screeningem, u dvou později na základě klinických příznaků. Celkově jsme identifikovali osm mutací, všechny ve složeně heterozygotním stavu.

Pacient 1

Nyní 13letá dívka byla zachycena novorozeneckým screeningem, který prokázal subklinickou hypotyreózu (TSH 71 mIU/l, tT4 114 nmol/l). Ultrazvukové vyšetření štítné žlázy provedené po narození ukázalo malou difuzní strumu. Substituční léčba L-tyroxinem zahájená ve věku 14 dní vedla rychle k dosažení trvalého eutyroidního stavu, a to bez dalšího růstu strumy. Porucha sluchu byla zjištěna ve věku čtyř let a byla klasifikována jako senzorineurální a těžká (70 dB oboustranně). Klinickou diagnózu Pendredova syndromu potvrdil nález dvou mutací ve složeně heterozygotním stavu – mutace ve startovacím kodonu genu v exonu 2 (c.3G>C) (12) a mutace ve splice site intronu 18 (c.2089 + 1G>A = c.IVS18 + 1G>A) (14). HR-CT vyšetření vnitřního ucha prokázalo bilaterální rozšíření vestibulárního akveduktu – vpravo 4,75 mm, vlevo 4,14 mm (obr. 1).



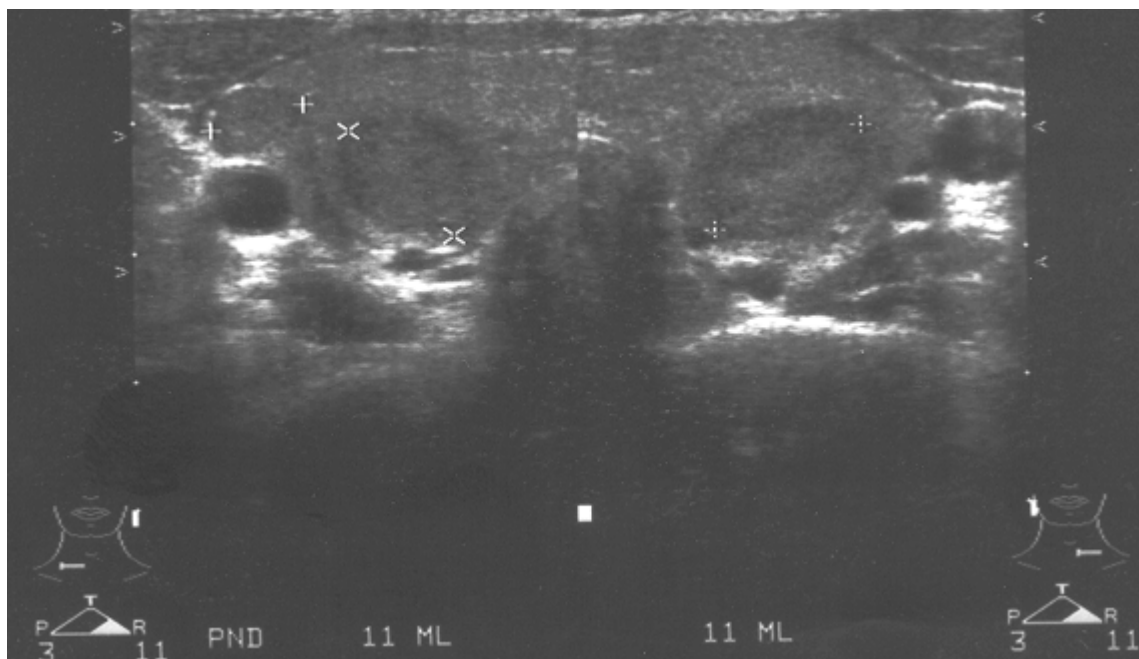
Obrázek 1. HR-CT pyramid s obrazem oboustranné dilatace vestibulárního akvaduktu

U 10leté sestry této probandky jsme sice zjistili stejný genotyp, ale fenotyp obou dívek se lišil. U sestry se velmi těžká sensorineurální hluchota (120 dB vpravo, 110 dB vlevo) manifestovala v předškolním věku, ale screening vrozené hypotyreózy byl negativní. Funkce štítné žlázy vyšetřená v 10 letech byla normální, jen ultrazvukové vyšetření ukázalo malou difusní strumu. Vestibulární akvedukt byl oboustranně rozšířen (vpravo 4,75 mm, vlevo 4,66 mm). Matka a mladší bratr obou sester jsou nositeli heterozygotní mutace v intronu 18. Nemají žádné fenotypové projevy. Otec vyšetřen nebyl, ale velmi pravděpodobně je nositelem druhé mutace.

Pacient 2

Případ této 23leté ženy jsme již samostatně publikovali (15). Pacientka je jediným dítětem zdravých nepříbuzných rodičů, screening vrozené hypotyreózy byl negativní. Ve věku dvou let si rodiče všimli, že dívka špatně slyší. Audiometrické vyšetření

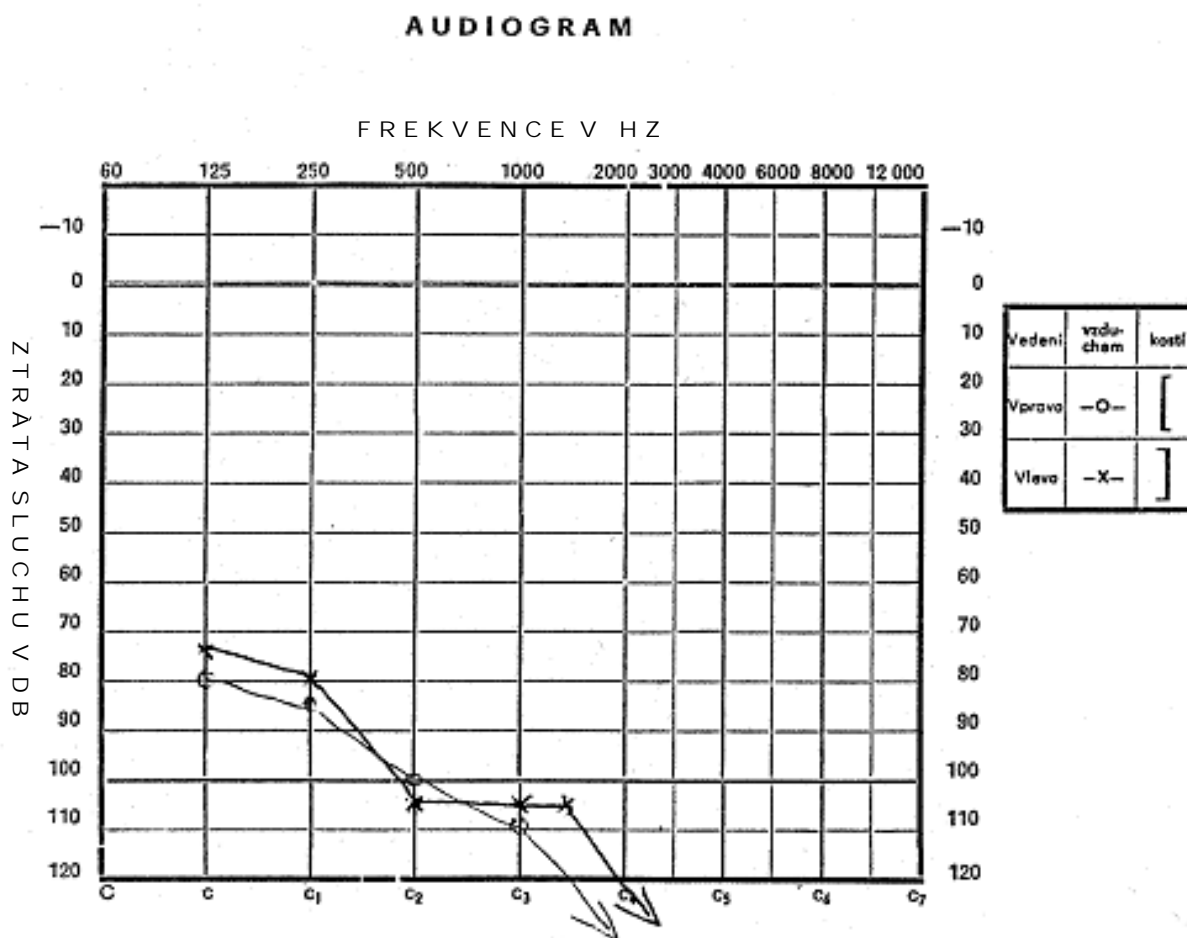
ukázalo senzorineurální středně těžkou nedoslýchavost (65 dB oboustranně). Postižení štítné žlázy se projevilo v sedmi letech věku malou strumou. Laboratorně byla prokázána hypotyreóza (TSH 14,8 mIU/l, fT4 6,53 pmol/l) a byla zahájena substituční léčba L-tyroxinem. Molekulárně-genetické vyšetření genu pro pendrin odhalilo složeně heterozygotní nosičství dvou substitucí c.1246A>C (= p.Thr416Pro) v exonu 10 (16) a c.1589A>C (= p.Tyr530Ser) v exonu 14 (17). Oba rodiče nesou jednu z mutací v heterozygotním stavu. I přes dobrou spolupráci a dlouhodobě normální hladiny tyreoidálních hormonů došlo u této ženy v průběhu života k progresi strumy. Pro nodulární přestavbu (obr. 2) byla u ní provedena aspirační biopsie tenkou jehlou s nálezem adenomu a byla indikována totální idektomie, kterou podstoupila ve věku 22 let. Následné histologické vyšetření neprokázalo známky malignity. Porucha sluchu se zatím neprohloubila. V období studie bylo u ní provedeno HR-CT vyšetření vnitřního ucha s nálezem bilaterální dilatace vestibulárního akveduktu.



Obrázek 2. Sonografické vyšetření ve věku 22 let s nálezem dvou solidních izoreflektivních uzlů (průměr 7 a 11 mm) v pravém laloku a jedním větším uzlem (20 x 14 x 9mm) v levém laloku štítnice.

Pacient 3

Hypotyreóza byla u tohoto nyní 17letého chlapce zjištěna novorozeneckým screeningem (neonatální TSH 38 mIU/l, tT4 9 nmol/l). V té době byla ultrazvukem zjištěna malá difúzní struma. Léčba L-thyroxinem byla zahájena 15. den života a vedla k postupnému relativnímu zmenšování strumy až do věku 10 let, kdy byla sonograficky štítná žláza normální velikosti. Porucha sluchu se manifestovala ve věku 1,5 roku a byla klasifikována jako senzorineurální a velmi těžká (110 dB vlevo a 100 dB vpravo) (obr. 3). Molekulárně-genetické vyšetření prokázalo genotyp c.1588T>C (= p.Tyr530His) (14) / c.1265T>A (= p.Val422Asp) (12). Rodinná anamnéza je neznámá, neboť chlapec byl brzy po narození předán k adopci.



Obrázek 3. Audiogram pacienta 3 ve věku 3 let s nálezem velmi těžké ztráty sluchu.

Pacient 4

42letý muž s vrozenou senzineurální poruchou sluchu zjištěnou ve věku 2 let byl v péči endokrinologa od 10 let pro non-autoimunitní hypofunkční strmu. Hormonální hladiny před zahájením substituční léčby nejsou známy. V průběhu života došlo k progresi a nodulární přestavbě strmy, pro kterou byl dvakrát operován. Při obou parciálních strumektomiích histologické vyšetření neprokázalo známky malignity. Molekulárně-genetické vyšetření potvrdilo diagnózu Pendredova syndromu nálezem dvou známých mutací v genu pro pendrin – c.422G>T (= p.Val138Phe) v exonu 4 (14) a c.1001+1G>A (= c.IVS8 + 1G>A) ve splice site intronu 8 (14, 17). Bratr

pacienta se léčí pro hypofunkční strumu a senzorineurální poruchu sluchu, genetické vyšetření však u něj nebylo možné provést. Rodiče obou bratrů jsou zdraví.

Pacient 5

U nyní 14leté dívky prokázal novorozenecký screening klinickou hypotyreózu s hladinou TSH 150 mIU/l a tT4 15 nmol/l. Velikost štítné žlázy byla při prvním sonografickém vyšetření po narození na horní hranici normy. V průběhu hormonální substituce zahájené ve věku 17 dní života se velikost žlázy postupně normalizovala. Senzorineurální neprogredující ztráta sluchu v rozsahu 50 dB oboustranně byla zjištěna ve věku 5 let. V rodinné anamnéze nebyla nalezena zmínka o poruše sluchu, sestra otce se léčila pro hypofunkční strumu. Molekulárně-genetické vyšetření genu pro pendrin v tomto případě neprokázalo žádnou mutaci.

Pacient 6

Dnes 13letá dívka byla v péči ORL lékaře od 6 let pro lehkou oboustrannou a symetrickou (35 dB) kombinovanou poruchu sluchu. Screening vrozené hypotyrózy byl negativní. V 8 letech byla zjištěna difúzní struma spojená se subklinickou non-autoimunitní hypotyreózou. Zpočátku byla léčena jodidem, později byla převedena na L-tyroxin. Na této terapii byla eufunkční s neměnným morfologickým obrazem strumy. Postupně se ale rozvinula porucha růstu na podkladě deficitu růstového hormonu a bylo zjištěno pravostranné zdvojení kalichopánvičkového systému a atypické kulovité rozšíření horního pólu sleziny. Mentální vývoj odpovídal věku. U dívky jsme nenalezli žádnou mutaci v genu pro pendrin. Rodinná anamnéza byla negativní z hlediska poruchy sluchu i onemocnění štítné žlázy.

Pacient 7

Senzorineurální porucha sluchu se u nyní 16leté dívky manifestovala v raném dětském věku. Audiometrické vyšetření prokázalo velmi těžkou nedoslýchavost (praktickou hluchotu) pravého ucha a těžkou nedoslýchavost (85 dB) vlevo. Na preventivní prohlídce ve věku 15 let byla praktickým lékařem zjištěna tužší hmatná struma spojená se subklinickou hypotyreózou (TSH 6,64 mIU/l, fT4 7,52 pmol/l). Ultrazvukové vyšetření zobrazilo asymetrickou strumu s cystickými strukturami v pravém laloku. Vzhledem k tomuto nálezu byla provedena aspirační biopsie tenkou jehlou. Tekutina z pseudocysty obsahovala řídký koloid, rozpadlé erytrocyty a benigní tyreocyty. Sonografický obraz zůstal po následujících letech nezměněn. Mutace v genu pro pendrin nalezena nebyla.

Pacient 8

Prvním projevem u této dnes 26leté ženy byla porucha sluchu zjištěná ve věku jednoho roku vyšetřením metodou BAEP (brainstem auditory evoked potentials), které bylo indikováno pro opoždující se psychomotorický vývoje dítěte. Později byla audiometrickým vyšetřením porucha sluchu klasifikována jako senzorineurální a středně těžká (60dB oboustranně). Ve věku 12 let byla dívka hospitalizována k vyšetření poruchy růstu a únavového syndromu. V klinickém obrazu byla patrna malá struma a myxedém, laboratorně byla prokázána těžká klinická hypotyreóza a ultrazvukové vyšetření potvrdilo difúzní strumu. Substituční terapie L-tyroxinem vedla k rychlému dosažení eutyroidního stavu bez další progresse strumy. U dívky byla v dětství také zjištěna vrozená srdeční vada (defekt síňového septa) a

hemodynamicky nevýznamná trikuspidální insuficience. Ani u ní molekulárně-genetické vyšetření neprokázalo mutaci v genu pro pendrin.

Pacient 9

13měsíční chlapec byl diagnostikován novorozeneckým screeningem kongenitální hypotyreózy ve Slovenské republice (hodnoty screeningu TSH >195 mIU/l, fT4 < 2,8 pmol/l). Ultrazvukový nálezn odpovídá kritériím dyshormonogeneze – byla nalezena symetrická štítná žláza normální velikosti a lokalizace. Porucha sluchu byla zjištěna ve věku 3 měsíců metodou otoakustických emisí. U dítěte nebyly patrné jiné vrozené vývojové vady či onemocnění a rodinná anamnéza byla negativní. Molekulárně-genetické vyšetření neprokázalo mutaci v žádném z 21 exonů genu pro pendrin.

Diskuze

Pendredův syndrom, klinicky definovaný jako asociace senzineurální nedoslýchavosti a dyshormonogenetické strumy, vede k postižení dvou různých systémů – endokrinního a sluchového – na podkladě stejného molekulárního mechanismu. Postižení pacienti proto potřebují komplexní mezioborovou péči, na které se podílejí endokrinologové a otorinolaryngologové (18). Porucha sluchu většinou bývá prvním klinickým symptomem a manifestuje se u všech případů. Pendredův syndrom je nejčastější příčinou syndromické hluchoty a je zodpovědný až za 10 % případů vrozené nedoslýchavosti (4, 5). Proto se doporučuje provést genetický screening genu pro pendrin u každého pacienta s vrozenou percepční

poruchou sluchu asociovanou s radiologicky prokázanou strukturální abnormitou vnitřního ucha, typickou pro toto onemocnění.

Z hlediska endokrinologa je stanovení diagnózy Pendredova syndromu ztíženo vysokou fenotypovou variabilitou a skutečností, že porucha štítné žlázy se u přibližně 20 % pacientů nemusí projevit vůbec (9). Na druhé straně je známo, že nedoslýchavost je u dětí s vrozenou hypotyreózou nejčastější sduženou funkční vadou, která může být způsobena mutací v genu pro pendrin, ale častěji přímým vlivem nedostatku hormonů štítné žlázy na pre- i postnatální vývoj sluchového aparátu (19). Tato skutečnost vede k výskytu fenokopí Pendredova syndromu.

Vysokou fenotypovou variabilitu a častý výskyt fenokopí potvrzuje i naše studie, která při diagnostice Pendredova syndromu vycházela primárně z pacientů endokrinologických ambulancí s poruchou funkce štítné žlázy zjištěnou novorozeneckým screeningem kongenitální hypotyreózy nebo později v dětství. Z devíti vyšetřených pacientů jsme diagnózu genetickým vyšetřením potvrdili u čtyř, u zbylých pěti se tedy pravděpodobně jednalo o fenokopie, opomineme-li jiné, vzácnější možné příčiny Pendredova syndromu, jako například mutace v oblasti promotoru *PDS/SLC26A4* genu či defekty jiných regulujících genů. Při zpětném detailním pohledu na fenotyp pacientů lze klinickou diagnózu Pendredova syndromu zpochybnit pouze u pacientky 6, u které se porucha sluchu manifestovala až ve věku 6 let a byla pouze lehká (35 dB), což je pro tuto diagnózu atypické. Dále lze spekulovat, že její další sdužené vývojové vady (zdvojení kalichopánvičkového systému, atypická slezina) jsou stejně jako u pacientky 8 (vrozená srdeční vada)

způsobeny jiným společným patogenetickým mechanismem. U ostatních pacientů bez nalezené mutace (pacientka 5, 7 a pacient 9) fenotyp věrně kopíruje Pendredův syndrom a patogeneze společného postižení štítné žlázy a sluchu zůstává nejasná.

Naše studie potvrzuje vysokou fenotypovou variabilitu z hlediska věku manifestace i závažnosti postižení štítné žlázy. Pozoruhodný je záchyt dvou dětí s pozitivním genetickým vyšetřením a hypotyreózou diagnostikovanou již časně po narození pomocí novorozeneckého screeningu (pacienti 1 a 3). Podobné případy jsou popisovány ojediněle, a to i ve studiích s většími skupinami probandů. Tyto případy zdůrazňují důležitost časného vyšetření sluchu u dětí s kongenitální hypotyreózou, které je dnes zajištěno povinným screeningovým vyšetřením sluchu metodou otoakustických emisí do 3 měsíců věku dítěte (20).

U pacientky 1 je zajímavá rodinná anamnéza s intrafamiliární variabilitou syndromu, kdy identický genotyp byl u dvou sester spojen s odlišnou klinickou manifestací postižení štítné žlázy. Stejná mutace u obou nepochybně stejně narušila funkci pendrinu a život v jedné rodině pravděpodobně zajistil srovnatelný přísun jódu ve stravě. Proto zbývá pouze spekulace o jiných mechanismech, které individuálně ovlivňují rozvoj poruchy štítné žlázy – např. funkce dalších jodidových transportérů, mimo jiné nedávno objeveného hAIT (human apical iodide transporter). K objasnění této problematiky budou nutné další studie.

Z hlediska fenotypové variability nelze opomenout ani odlišný dlouhodobý vývoj strumy, patrný u našich pacientů s Pendredovým syndromem. Zatímco u pacientky 1

zůstal morfologický obraz strumy neměnný, u pacienta 3 došlo k relativní regresi strumy do normální velikosti. Méně příznivý byl vývoj strumy u pacientů 2 a 4, přičemž u obou byla stejně jako u prvních dvou pacientů substituční léčba L-tyroxinem dle informace ošetřujícího lékaře dostatečná a účinná. U obou však došlo k progresi strumy s nodulární přestavbou, která si vyžádala chirurgickou intervenci. Zatímco u pacientky 2 byla při první operaci provedena totální idektomie, pacient 4 podstoupil nodulektomii, kterou však pro další hyperplázii reziduální tkáně bylo nutné opakovat. Podobný vývoj je u dyshormonogenetických strum známý a je pravděpodobně důsledkem chronické stimulace tyreotropinem. Progrese a vývoj nodulární hyperplázie nebo adenomů přináší riziko maligní transformace folikulárních buněk, které je u strum na podkladě dyshormonogeneze dle některých údajů vyšší než u strum jiné etiologie (10). Proto při léčení těchto pacientů má být kladen zvláštní důraz na striktní udržení eufunkčního stavu a pravidelná zobrazovací vyšetření štítné žlázy.

Závěr

Naše studie potvrzuje vysokou fenotypovou variabilitu postižení štítné žlázy u pacientů s Pendredovým syndromem a poukazuje na potřebnost genetického vyšetření k potvrzení klinické diagnózy tohoto onemocnění vzhledem k častému výskytu fenokopii. Z endokrinologického hlediska však doporučujeme provést molekulárně-genetické vyšetření genu pro pendrin pouze u pacientů s vrozenou

hypotyreózou na podkladě dyshormonogeneze asociovanou se středně těžkou až těžkou sensorineurální poruchou sluchu.

Poděkování

Studie Pendredova syndromu je podpořena výzkumným záměrem MSM 0021620814. Děkujeme MUDr. Ondřejovi Cinkovi, Ph.D. za odborné laboratorní vedení projektu.

Literatura

1. Park, S.M., Chatterjee, V.K.: Genetics of congenital hypothyroidism. *J Med Genet*, 2005, 42, s. 379-389.
2. Scott, D.A., Wang, R., Kreman, T.M., Sheffield, V.C., Karniski, L.P.: The Pendred syndrome gene encodes a chloride-iodide transport protein. *Nat Genet*, 1999, 21, s. 440-443.
3. Everett, L.A., Glaser, B., Beck, J.C., Idol, J.R., Buchs, A., Heyman, M., Adawi, F., Hazani, E., Nassir, E., Baxevanis A.D, Sheffield, V.C., Green, E.D.: Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (PDS). *Nat Genet*, 1997, 17, s. 411-422.
4. Fraser, G.R.: Association of Congenital Deafness with Goitre (Pendred's Syndrome) a Study of 207 Families. *Ann Hum Genet*, 1965, 28, s:201-249.
5. Reardon, W., Trembath, R.C.: Pendred syndrome. *J Med Genet*, 1996, 33, s. 1037-1040.
6. Banghová, K., Al Taji, E., Lebl, J.: Pendrin a jeho úloha v patogenezi kongenitální hypotyreózy a dalších onemocnění. *DMEV*, 2006, 9, s. 80-84.
7. Astl, J., Veselý, D., Jablonický, P.: Pendredův syndrom - poznámky k problematice vrozené autosomálně recesivní percepční nedoslýchavosti spojené se strumou. *Otorinolaryng a Foniatic*, 2004, 53, s. 55-59.
8. Phelps, P.D., Coffey, R.A., Trembath, R.C., Luxon, L.M., Grossman, A.B., Britton, K.E., Kendall-Taylor, P., Graham, J.M., Cadge, B.C., Stephens, S.G., Pembrey, M.E., Reardon, W.: Radiological malformations of the ear in Pendred syndrome. *Clin Radiol*, 1998, 53, s. 268-273.

9. Reardon, W., Coffey, R., Chowdhury, T., Grossman, A., Jan, H., Britton, K., Kendall-Taylor, P., Trembath, R.: Prevalence, age of onset, and natural history of thyroid disease in Pendred syndrome. *J Med Genet*, 1999, 36, s. 595-598.
10. Medeiros-Neto, G., Stanbury, J.B.: In: Medeiros-Neto G, Stanbury JB (eds) *Inherited Disorders of the Thyroid system*. CRC press, Boca Raton 1994, s. 909-916.
11. Gaudino, R., Garel, C., Czernichow, P., Leger, J.: Proportion of various types of thyroid disorders among newborns with congenital hypothyroidism and normally located gland: a regional cohort study. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2005, 62, s. 444-448.
12. Banghova, K., Al Taji, E., Cinek, O., Novotna, D., Pourova, R., Zapletalova, J., Hnikova, O., Lebl, J.: Pendred syndrome among patients with congenital hypothyroidism detected by neonatal screening: identification of two novel *PDS/SLC26A4* mutations. *Eur J Pediatr*, 2008, 167(7), s 777-783.
13. Borck, G., Roth, C., Martine, U., Wildhardt, G., Pohlenz, J.: Mutations in the *PDS* gene in German families with Pendred's syndrome: V138F is a founder mutation. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88, s. 2916-2921.
14. Blons, H., Feldmann, D., Duval, V., Messaz, O., Denoyelle, F., Loundon, N., Sergout-Allaoui, A., Houang, M., Duriez, F., Lacombe, D., Delobel, B., Leman, J., Catros, H., Journal, H., Drouin-Garraud, V., Obstoy, M.F., Toutain, A., Oden, S., Toubanc, J.E., Couderc, R., Petit, C., Garabedian, E.N., Marlin, S.: Screening of *SLC26A4* (*PDS*) gene in Pendred's syndrome: a large spectrum of mutations in France and phenotypic heterogeneity. *Clin Genet*, 2004, 66, s. 333-340.

15. Banghova, K., Cinek, O., Al Taji, E., Zapletalova, J., Vidura, R., Lebl, J.: Thyroidectomy in a patient with dysmorphogenetic goitre - a case of Pendred syndrome confirmed by finding mutations in the *PDS/SLC26A4* gene. 2008. *J Pediatr Endocrinol Metab. In Press.*
16. Napiontek, U., Borck, G., Muller-Forell, W., Pfarr, N., Bohnert, A., Keilmann, A., Pohlenz, J.: Intrafamilial variability of the deafness and goiter phenotype in Pendred syndrome caused by a T416P mutation in the *SLC26A4* gene. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89, s. 5347-5351
17. Pryor, S.P., Madeo, A.C., Reynolds, J.C., Sarlis, N.J., Arnos, K.S., Nance, W.E., Yang, Y., Zalewski, C.K., Brewer, C.C., Butman, J.A., Griffith, A.J.: *SLC26A4/PDS* genotype-phenotype correlation in hearing loss with enlargement of the vestibular aqueduct (EVA): evidence that Pendred syndrome and non-syndromic EVA are distinct clinical and genetic entities. *J Med Genet*, 2005, 42, s. 159-165.
18. Laštůvka, P., Taudy, M., Vrabec, P.: Pendredův syndrom u dospívající dívky. *Otorinolaryngol*, 2001, 50, s. 92-94.
19. Debruyne, F., Vanderschueren-Lodeweyckx, M., Bastijns, P.: Hearing in congenital hypothyroidism. *Audiology*, 1983, 22, s. 404-409.
20. Věstník MZ ČR. Metodický návod zajištění celoplošného novorozeneckého laboratorního screeningu a následné péče, oddíl 2 - kongenitální hypotyreóza. 2002, s. 4-11.

Studie, část 2 - diskuze

V druhé části naší studie, ve které jsme soubor probandů rozšířili o pacienty s non-autoimunitní hypotyreózou diagnostikovanou v dětském věku, bylo vyšetřeno dalších pět pacientů s klinickou diagnózou Pendredova syndromu. Molekulárně-genetické vyšetření genu pro pendrin tuto diagnózu potvrdilo u dvou pacientů nalezením čtyř již známých mutací. Celkově jsme tak měli k dispozici čtyři pacienty s geneticky potvrzeným Pendredovým syndromem, ale odlišným fenotypem.

Fenotypická variabilita poruchy štítné žlázy u Pendredova syndromu

Nález čtyř pacientů s odlišným fenotypem je v souladu s ostatními studii a potvrzuje vysokou fenotypickou variabilitu tohoto onemocnění jak z hlediska věku při manifestaci, tak i závažnosti a dlouhodobého vývoje postižení štítné žlázy. Na druhé straně, dle dosavadních studií se postižení štítné žlázy objevuje nejčastěji ve druhé dekádě života a to ve formě eufunkční strumy. Z tohoto pohledu je záchyt dvou pacientů s kongenitální hypotyreózou detekovanou novorozeneckým screeningem (pacientka 1 a pacient 3) a dvou pacientů s manifestací v první dekádě života (pacientka 2 ve věku 6 let a pacient 4 ve věku 10 let) spíše atypický. Atypická je i tíže onemocnění pozorována v naší studii: subklinická hypotyreóza a struma u pacientky 1, klinická hypotyreóza a struma u pacientky 2 a u pacienta 3 a 4, která se neshoduje s nálezem většinou eufunkčních strum v ostatních studiích. Jednoznačné závěry však nejsou možné vzhledem k nízkému počtu pacientů, identifikovaných v naší studii.

Intrafamiliární fenotypická variabilita u Pendredova syndromu

Vyšetřením dostupných rodinných příslušníků našich pacientů se nám také podařilo dokumentovat případ intrafamiliární variability Pendredova syndromu. Identický genotyp byl u dvou sester spojen s odlišnou klinickou manifestací postižení štítné žlázy – u probandky se jednalo o manifestaci ve formě kongenitální hypotyreózy zachycené screeningem, u sestry postižení štítné žlázy odhalilo až cílené pátrání v rámci této studie - ve formě nevelké eufunkční strumy. Podobných případů je v literatuře popsáno již několik, jejich vysvětlení však zůstává nejasné (Fugazzola et al. 2007, Napiontek et al. 2004). Jako nejpravděpodobnější se jeví kompenzační mechanismy, které by mohli ovlivnit tíži poruchy organifikace jodidu, například přítomnost dalších jodidových transportérů na apikální membráně tyreocytu (např. nedávno identifikovaný hAIT, human apical iodide transporter) (Rodriguez et al. 2002). Porucha organifikace jodidu je u Pendredova syndromu pouze částečná, což lze prokázat pomocí perchlorátového testu. Tento test je však v současné době považován za málo specifický a vzhledem k jeho sporné indikaci v dětském věku u našich pacientů nebyl proveden.

Korelace genotyp-fenotyp

Z případu intrafamiliární variability Pendredova syndromu dále vyplývá skutečnost, že jeden genotyp může způsobovat různé fenotypické projevy, což znesnadňuje stanovení korelací genotyp-fenotyp. Tento závěr však lze v souvislosti s naší studií vyslovit pouze z hlediska postižení štítné žlázy, což je v souladu s ostatními studiemi. Práce poslední doby však jednoznačně poukazují na korelaci mezi komplexitou

postižení vnitřního ucha a genetickou heterogenitou, což v naší studii zkoumáno nebylo (Azaiez et al. 2007, Maciaszczyk a Lewinski 2008).

Heterogenita mutací v *PDS/SLC26A4* genu

V druhé části studie byly identifikovány další čtyři mutace v genu pro pendrin - c.1246A>C (= p.Thr416Pro) v exonu 10, c.1589A>C (= p.Tyr530Ser) v exonu 14, c.422G>T (= p.Val138Phe) v exonu 4 a c.1001+1G>A (= c.IVS8 + 1G>A) ve splice site intronu 8. Všechny mutace již byly opakovaně popsány. U mutací p.Thr416Pro a c.IVS8 + 1G>A se jedná o dvě z nejčastějších mutací v kavkazské populaci (Napiontek et al. 2004, Campbell et al. 2001, Scott et al. 2000). Nyní byly prokázány i v české populaci.

Studie, část 3 – úvod

Kazuistika pacientky s Pendredovým syndromem a multinodulární strumou

Třetí část práce popisuje podrobnou kazuistiku pacientky s geneticky prokázaným Pendredovým syndromem, u které v průběhu života došlo k nárůstu strumy s nodulární přestavbou. Vzhledem k tomuto vývoji byla u pacientky ve věku 22let provedena totální tyreoidektomie. Přístup ke strumám dyshormonogenetické etiologie je v současné době stále kontroverzní, zejména co se týče načasování a typu chirurgického výkonu.

Případ byl publikován samostatně, formou kazuistiky v *Journal of Paediatric Endocrinology & Metabolism* (článek IV, přijat do tisku). V článku autorka diskutuje o vzniku, rizicích a komplikacích strum na podkladě dyshormonogeneze a řeší problematiku vhodné prevence a optimálního léčebného postupu.

Studie, část 3 - článek IV**Thyroidectomy in a patient with multinodular dyshormonogenetic goitre -
a case of Pendred syndrome confirmed by finding mutations in the
PDS/SLC26A4 gene**

Karolina Banghova¹, Ondrej Cinek¹, Eva Al Taji², Jirina Zapletalova³, Radan Vidura⁴
and Jan Lebl¹

¹ Department of Paediatrics, Second Faculty of Medicine, Charles University in
Prague, Prague, Czech Republic

² Department of Paediatrics, Third Faculty of Medicine, Charles University in Prague,
Prague, Czech Republic

³ Department of Paediatrics, Faculty of Medicine, Palacky University, Olomouc,
Czech Republic

⁴ Department of Otorhinolaryngology, Faculty of Medicine, Palacky University,
Olomouc, Czech Republic

Short title: Thyroidectomy in a patient with dyshormonogenetic goitre

Case Report, J Pediatr Endocrinol Metab 2008; *In Press*

*The study was supported by Charles University in Prague (grant GAUK 2008/2007)
and by the Czech Ministry of Education (grant MSM 0021620814)*

Abstract

We report a case of a young woman with genetically confirmed Pendred syndrome and discuss the current therapeutic strategies of dysmorphogenetic goitre. In this patient, a small diffuse thyroid enlargement developed during infancy and although the substitution therapy with L-thyroxine was adequate, it progressed and underwent multinodular transformation. Cervical ultrasound at the age of 22 years demonstrated three solid nodules and the fine-needle aspiration biopsy showed a finding typical for a follicular adenoma.

Conclusion: It is a known fact that dysmorphogenetic goitres have a tendency to grow despite an appropriate treatment with L-thyroxine. Therefore the management of a patient with Pendred syndrome requires a careful follow-up and regular imaging of the thyroid. Although the therapeutic approach to dysmorphogenetic goitres is still controversial in our patient we have chosen the total thyroidectomy as the most advantageous method to prevent the development of malignancies that may more frequently arise from dysmorphogenetic goitres than from goitres of other aetiologies.

Keywords

Hypothyroidism · Goitre · Thyroid surgery · Pendred syndrome · Dysmorphogenesis
· *SLC26A4*

Introduction

Pendred syndrome (OMIM 274600) is characterized by the classical phenotype of dysmorphogenetic goitre and sensorineural deafness (1). Additional clinical features can be radiologically diagnosed structural malformations of the inner ear (2) - enlarged vestibular aqueduct and/or Mondini cochlea - which are not specific solely for Pendred syndrome and can be associated with other types of hearing loss as well.

The disease shows an autosomal recessive pattern of inheritance and is caused by mutations in the *PDS* (Pendred syndrome) gene (also known as *SLC26A4* - member 4 of the solute carrier family 26, OMIM 605646) The gene is located on chromosome 7q31 (3) and encodes pendrin, a highly hydrophobic transmembrane glycoprotein, predominantly expressed in the thyroid gland, inner ear and kidney (3).

In the thyroid gland, pendrin is located at the apical surface of the thyroid cell and functions as a chloride-iodide exchanger (4). It transports iodide from the cell to the colloid in the follicular lumen, where iodide is bound on tyrosine residues of thyroglobulin (5). The loss of pendrin function results in an organification defect and leads to thyroidal dysmorphogenesis which in the majority of cases manifests as a euthyroid or hypothyroid goitre (6, 7). The defect may be partially compensated via iodide intake and the hypothyroidism is more severe if the iodine intake is on the lowish side.

Dyshormonogenetic goitres are an important clinical challenge as they often undergo a nodular transformation probably due to a prolonged stimulation by thyrotropin. Especially in patients with inadequate treatment the development of malignancies is a feared complication and surgery often becomes necessary. Moreover, other studies have shown that the occurrence of carcinomas is higher in goitres developing due to dyshormonogenesis than in those of other aetiology (8). Particularly in Pendred syndrome, cases with very aggressive metastatic follicular carcinomas have repeatedly been reported (9, 10, 11).

In the present article we describe a case of a girl with sensorineural hearing loss and dyshormonogenetic goitre in whom the diagnosis of Pendred syndrome was confirmed by identification of mutations in both alleles of the *PDS* gene. Although the therapy of the thyroid disease was adequate and the patient showed a very good compliance, she developed a multinodular goitre during adolescence. Although we acknowledge that the therapy of nodular thyroid disease remains a controversial issue a total thyroidectomy was performed at the age of 22 years.

Case Report

The now 22 years old female was born as the only child of non-consanguineous parents who originate from the Czech Republic. The parents have normal hearing, no signs of hypothyroidism and no goitre. The pregnancy and perinatal history was unremarkable. She was born in term with a birth weight of 2700g and a length of

47cm. In spite of otherwise normal neuropsychological development, she had not developed speech up to the age of 2 years. Additionally, her parents realised that she did not respond appropriately to sounds. An audiometric investigation during her 3rd year of life revealed a bilateral moderate hearing loss that was classified as sensorineural. At the age of three years she was provided with binaural hearing aids and her further psychic and somatic development was normal.

The thyroid disease was diagnosed at the age of seven years when the girl presented with a swelling of the neck. Thyroid function tests revealed a mild clinical hypothyroidism with decreased level of free thyroxine (fT₄ 6.53 pmol/L, normal range 10.5-27) and elevated thyrotropin (TSH 14.8 mU/L, normal range 0.34-5.5). Anti-thyroperoxidase and anti-thyroglobulin antibodies were negative. The thyroid ultrasound showed a small diffuse goitre. Substitution therapy with L-thyroxine was started immediately and the patient soon achieved a euthyroid state and showed a good compliance.

The clinical diagnosis of Pendred syndrome was established based on the association of goitre and sensorineural hearing loss, but at that time no genetic testing was available. Almost 15 years later the patient was referred to our department for the molecular-genetic analysis of the *PDS* gene that confirmed the clinical diagnosis. Direct sequencing of all 21 exons and intron-exon boundaries was performed using primers and PCR conditions as described by Borck *et al*¹² with further modifications. Two known mutations in compound heterozygous state were found (Figure 1). The first mutation is a common transversion A>C at position 1246 of

the cDNA sequence (c.1246A>C). It is located in exon 10 and predicts an amino acid change from threonine to proline in position 416 of the pendrin protein (p.Thr416Pro). The second mutation is a missense mutation as well, located in exon 14 - c.1589A>C - and leads to substitution of tyrosine for serine in codon 530 (p.Tyr530Ser). The father of the patient was found to be heterozygous carrier of the mutation in exon 14. The mother is carrying the second mutation in exon 10 also in a heterozygous state.

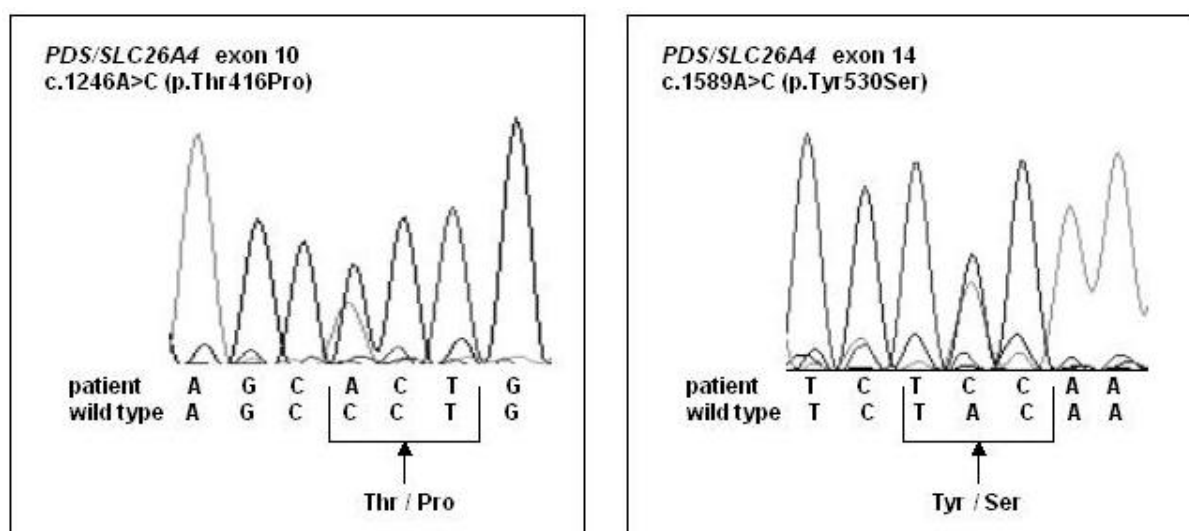


Figure 1. Sequence analysis of the two *PDS/SLC26A4* mutations identified in our patient

Although the patient regularly attended her follow-ups and the performed thyroid function tests were always within the normal range, the goitre progressed during adolescence and underwent multinodular transformation (Figure 2). The thyroid ultrasound at the age of 22 years showed two solid isorefective nodules (7 and 11mm in diameter) in the middle to upper part of the right thyroid lobe and one larger nodule (20 x 14 x 9mm) in the left thyroid lobe (Figure 3). The fine-needle aspiration biopsy from the larger nodule revealed benign follicular cells and microfollicular

formations leading to the diagnosis of a follicular adenoma. The thyroid hormone levels at that time were again normal (fT_4 18.7 pmol/L, TSH 2.99 mU/L) under T_4 replacement therapy. The patient did not complain about any neck discomfort or swallowing difficulties but the goitre started to become a cosmetic problem. Subsequently a total thyroidectomy (Figure 2) was performed and the histological examination showed that the nodules have rather characteristic features of benign hyperplastic lesions than of true neoplasmas. After the thyroidectomy no complications occurred, the girl is doing well on the full substitution therapy.



Figure 2. Left: The 22 years old female with multinodular goitre. Right: Multinodular goitre after total thyroidectomy.

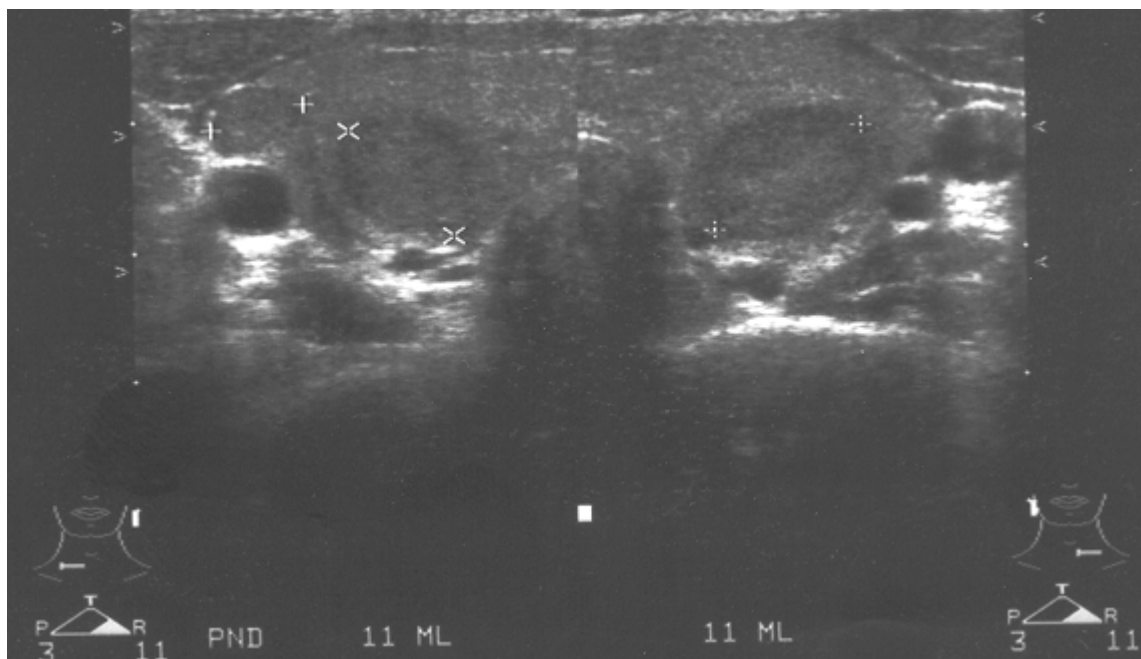


Figure 3. Thyroid ultrasound at the age of 22 years with two well-circumscribed solid isorefective nodules (7 and 11mm in diameter) in the right thyroid lobe and one bigger nodule (20 x 14 x 9mm) in the left thyroid lobe.

In contrast to the thyroid disease the hearing loss showed only a slight deterioration until the present time. Latest audiometry revealed a moderate to severe bilateral sensorineural hearing loss - the threshold mounted up to a mean of 65 dB in the right and 70dB in the left ear. Additionally a high-resolution computer tomography (HR-CT) of the inner ear was done and documented a bilaterally enlarged vestibular aqueduct of 4.6mm.

Discussion

Pendred syndrome with its involvement of two different systems - the auditory and the endocrine - and its diagnostic and therapeutic complexity, requires a continuous interdisciplinary management with cooperation of endocrinologists, otologists, geneticists and sometimes surgeons. For the endocrinologic section it is important that the disease is one of the genetic causes of congenital hypothyroidism based on dysmorphogenesis (13). However, the diagnostic difficulty lies in the very high phenotypic variability, especially of the thyroid involvement of the disease. Apart from the cases in which the thyroid dysfunction does not develop at all, in the majority of patients it presents in form of a euthyroid or hypothyroid goitre which most often occurs in the second decade of life (6, 7).

Dysmorphogenetic goitre is a rare type of goitre, being observed in 1 of 30 000 births. Except *PDS*, also other genes have been shown to be involved in its pathogenesis, including those for thyroidal peroxidase (*TPO*), thyroglobulin (*TG*), sodium iodide symporter (*NIS*) and more recently thyroid oxidase 2 (*THOX2*) (14).

In the present article we report a patient with dysmorphogenetic goitre due to mutations in the *PDS* gene. In this case a small diffuse hypothyroid goitre manifested at a relatively early age, progressed during the subsequent years and finally underwent a nodular transformation. This course is observed frequently in dysmorphogenetic goitres, although more often if the compliance is poor or the treatment inadequate, and is thought to be a consequence of a long-term stimulation

by elevated levels of thyrotropin (8). Interestingly, our patient showed doubtless a good cooperation and a high TSH was never documented during regular follow-up.

One of the most serious complications of goitres is the development of malignancies. As known, continuously replicating cells under TSH stimulation may acquire epigenetic changes and assume autonomy of growth that can proceed into the arising of an invasive thyroid carcinoma. Hence, a significantly higher occurrence of malignant tumours has been found in goitres of patients with congenital hypothyroidism due to dyshormonogenesis (17%) (8) than in multinodular goitres of other aetiologies (6-8%) (15). In a study of 109 thyroidectomized patients with dyshormonogenesis Medeiros-Neto *et al* (8) found 19 with follicular carcinomas of which many displayed aggressive behaviour.

Furthermore, many cases of patients with Pendred syndrome and thyroid malignancy have been reported in the literature. Camargo *et al* (9) studied an inbred pedigree with Pendred syndrome in which the index patient - a 53 years old female - developed a follicular carcinoma with areas of anaplastic transformations and lung metastasis. Watanabe *et al* (10) described a women with an undifferentiated carcinoma that invaded the trachea and metastasised to the lungs and bones and Abs *et al* (11) followed a case of 54 year old man who expressed a metastasising thyroid carcinoma in the remnant tissue after a subtotal thyroidectomy.

In view of these facts the optimal strategy towards hereby is still not known. Numerous authors suggest that the primary therapy should be conservative which is

based on the fact that thyroxine given in a dose sufficient to cause TSH suppression can lead to a complete regression of the goitre (8). This was already observed in several cases although it seems to be that regression is less if the goitre is nodular. Therefore it is important to identify and treat the dysmorphonogenetic goitre early, before it undergoes the nodular transformation, since at that stage a complete regression is most probable a surgery may be avoided (16). Nevertheless, still contentious is how to proceed if the goitre does not respond to the conservative treatment as in our patient and the thyroid enlargement progresses despite a good adjustment of the substitution therapy. When is the right moment for the patient to undergo an operation and what is the optimal surgical procedure?

The current indications for a thyroidectomy of a multinodular goitre are based either on the occurrence of compression-induced symptoms, suspected malignancy or cosmesis (17). In our patient there were no signs of tracheal compression and a fine-needle aspiration biopsy, which is according to the majority the most efficient method to uncover malignancies, revealed no malignant cells. However, a negative biopsy does not exclude with certainty the possibility of a carcinoma, especially in multinodular goitre where the error in sampling the right area is large (18). In addition, our patient started to complain about the cosmetic aspect of the goitre, which supported us in our decision to move toward a surgical solution.

In accordance with published works and regarding the fact that dysmorphonogenetic goitres have a higher recurrence rate (8) we have chosen total thyroidectomy as the most advantageous surgical method for our patient. An increasing number of

publications recommend the total or near total thyroidectomy as the procedure of choice for the management of multinodular thyroid disease although this issue remains controversial and others still propose a less radical treatment in form of a limited thyroid resection (17, 19). However, for dyshormonogenetic goitres we see the clear advantage of the total thyroidectomy in avoidance of the regrowth of the remnant tissue, the possibility of malign transformation and thus in the reducing the risk of a reoperation, which is associated with increased morbidity.

In conclusion, dyshormonogenetic goitres can progress and become nodular even though the substitution therapy is appropriate and there are normal levels of TSH. According to other published works, nodules in dyshormonogenetic goitre more often become malignant than nodules of other aetiology. Therefore a regular follow-up and thyroid imaging by an endocrinologist is mandatory in patients with Pendred syndrome and a total thyroidectomy can be the most profitable method for particular patients in which the thyroid dysfunction shows progression despite previous long-term conservative therapy.

Acknowledgements

The study was supported by Charles University in Prague (grant GAUK 2008/2007) and by the Czech Ministry of Education (grant MSM 0021620814). We express our thanks to Prof. J. Pohlenz and his colleagues from Hospital of the Johannes

Gutenberg University in Mainz, Germany for providing us with the currently used primer sequences and PCR conditions.

References

1. Reardon W, Trembath RC: Pendred syndrome. *J Med Genet* 1996;33:1037-1040.
2. Phelps PD, Coffey RA, Trembath RC, Luxon LM, Grossman B, Britton KE, Kendall-Taylor P, Graham JM, Cadge BC, Stephens SG, Pembrey ME, Reardon W: Radiological malformations of the ear in Pendred syndrome. *Clin Radiol* 1998;53:268-273.
3. Everett LA, Glaser B, Beck JC, Idol JR, Buchs A, Heyman M, Adawi F, Hazani E, Nassir E, Baxevanis D, Sheffield VC, Green ED: Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (PDS). *Nat Genet* 1997;17:411-422.
4. Scott DA, Wang R, Kreman TM, Sheffield VC, Karniski LP: The Pendred syndrome gene encodes a chloride-iodide transport protein. *Nat Genet* 1999;21:440-443.
5. Royaux IE, Suzuki K, Mori A, Katoh R, Everett LA, Kohn LD, Green ED: Pendrin, the protein encoded by the Pendred syndrome gene (PDS), is an apical porter of iodide in the thyroid and is regulated by thyroglobulin in FRTL-5 cells. *Endocrinology* 2000;141:839-845.
6. Fraser GR: Association of Congenital Deafness with Goitre (Pendred's Syndrome) a Study of 207 Families. *Ann Hum Genet* 1965;28:201-249.
7. Reardon W, Coffey R, Chowdhury T, Grossman A, Jan H, Britton K, Kendall-Taylor P, Trembath R: Prevalence, age of onset, and natural history of thyroid disease in Pendred syndrome. *J Med Genet* 1999;36:595-598.

8. Medeiros-Neto G, Stanbury JB: Thyroid malignancy and dysmorphogenetic goiter. In: Medeiros-Neto G, Stanbury (eds) *Inherited Disorders of the Thyroid system*. CRC Press, Boca Raton. 1994;909-916.
9. Camargo R, Limbert E, Gillam M, Henriques MM, Fernandes C, Catarino L, Soares J, Alves VA, Kopp P, Medeiros-Neto G: Aggressive metastatic follicular thyroid carcinoma with anaplastic transformation arising from a long-standing goiter in a patient with Pendred's syndrome. *Thyroid* 2001;11:981-988.
10. Watanabe I: Dysmorphogenesis--with special reference to its relationship with thyroid adenoma. *Hormon To Rinsho* 1983;31:627-636.
11. Abs R, Verhelst J, Schoofs E, De Somer E. Hyperfunctioning metastatic follicular thyroid carcinoma in Pendred's syndrome. *Cancer* 1991;67:2191-2193.
12. Borck G, Roth C, Martine U, Wildhardt G, Pohlenz J. Mutations in the PDS gene in German families with Pendred's syndrome: V138F is a founder mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:2916-2921.
13. Banghova K, Al Taji E, Cinek O, Novotna D, Pourova R, Zapletalova J, Hnikova O, Lebl J: Pendred syndrome among patients with congenital hypothyroidism detected by neonatal screening: identification of two novel PDS/SLC26A4 mutations. *Eur J Pediatr* 2008;167(7):777-83.
14. Gillam MP, Kopp P: Genetic defects in thyroid hormone synthesis. *Curr Opin Pediatr* 2001;13:364-372.

15. Pelizzo MR, Bernante P, Toniato A, Fassina A: Frequency of thyroid carcinoma in a recent series of 539 consecutive thyroidectomies for multinodular goiter. *Tumori* 1997;83:653-655.
16. Vittal S, Chandrasekaran M, Kumar KB, Sucharitha V, Jeevaratinam R: Dysmorphogenetic goitre. *J R Coll Surg Edinb* 1993;38:205-207.
17. Ozbas S, Kocak S, Aydintug S, Cakmak A, Demirkiran MA, Wishart GC: Comparison of the complications of subtotal, near total and total thyroidectomy in the surgical management of multinodular goitre. *Endocr J* 2005;52:199-205.
18. Tollin SR, Mery GM, Jelveh N, Fallon EF, Mikhail M, Blumenfeld W, Perlmutter S. The use of fine-needle aspiration biopsy under ultrasound guidance to assess the risk of malignancy in patients with a multinodular goiter. *Thyroid* 2000;10:235-241.
19. Gough IR, Wilkinson D: Total thyroidectomy for management of thyroid disease. *World J Surg* 2000; 24:962-965.

Studie, část 3 - diskuze

Patofyziologie dyshormonogenetických strum

Dyshormonogenetická struma je vzácným typem strumy s incidencí 1 : 30 000. Na její etiologii se kromě mutací v genu pro pendrin podílí i defekty v ostatních kandidátních genech pro tyreoidální dyshormonogenezi (gen pro tyreoidální peroxidázu *TPO*, tyreoglobulin *TG*, natrium-jodidový symportér *NIS* a tyreoidální oxidázu 2 *THOX2*) (Gillam a Kopp 2001).

Dyshormonogenetické strumy pravděpodobně vznikají na podkladě chronické stimulace tyreopinem, jehož hladina je zvýšená z důvodu kompenzace nedostatečné produkce tyreoidálních hormonů. Prodloužený účinek tyreotropinu na počátku vede ke vzniku difúzní hyperplázie, která se další stimulací s nerovnoměrnou citlivostí buněk k růstovému stimulu mění v nodulární nebo adenomatózní. Tento patogenetický mechanismus se uplatňuje i u strum jiné, například jodopenické etiologie a je logicky výraznější u pacientů se špatnou compliance nebo nedostatečnou substituční léčbou tyreoidálními hormony (Medeiros-Neto a Stanbury 1994).

Dyshormonogenetické strumy však na rozdíl od jiných strum vykazují několik zvláštností. Typická dyshormonogenetická struma je asymetrická, multinodulární a neléčená může narůst do velmi velkých rozměrů (některé štítné žlázy vážily až několik stovek gramů). V makroskopickém obrazu dominují velké a solidní uzly, častým nálezem jsou i oblasti cystické degenerace, fokální fibrózy a kalcifikace.

Zkušený patolog však vidí rozdíly i na mikroskopické úrovni, kde dysghormonogenetické strumy v pozdějších stádiích většinou charakterizují významné hyperplastické a adenomatózní změny. V histologických popisech často nalézáme zmínku o zvýšené buněčnosti, atypiích a vyšším podílu mitóz, známky které upozorňují na riziko maligní transformace a měly by vést k zvýšené pozornosti a zejména zvýšení frekvence preventivních vyšetření (Deshpande a Bobathe 2005). Některé studie uvádějí, že incidence folikulárních karcinomů je ve strumách na podkladě dysghormonogeneze vyšší (Medeiros-Neto a Stanbury 1994), než u strum jiné etiologie a v literatuře opakovaně nalézáme případy velmi agresivních folikulárních karcinomů, zvláště u pacientů s mutacemi v genu pro pendrin a tyreoidální peroxidázu (Camargo et al. 2001, Medeiros-Neto et al. 1998).

Léčba dysghormonogenetických strum

Vzhledem ke výše zmíněným skutečnostem je terapeutický přístup k dysghormonogenetickým strumám stále kontroverzní. Dle většiny autorů by na počátku měla stát konzervativní léčba, přičemž by však substituce L-tyroxinem měla být nastavena co nejpřísněji a nejoptimálněji. Konzervativní léčbu by měla doplňovat častá kontrolní vyšetření, zaměřená jednak na udržování eutyreoidního stavu a dále na pravidelné klinické a zobrazovací vyšetření štítné žlázy se zřetelem na vznik a růst uzlů. Aspirační biopsie tenkou jehlou by pak měla být provedena u všech uzlů větších než 1cm a dále u uzlů menších než 1cm, pokud jeví klinické nebo sonografické známky malignity (AACE/AME Guidelines for thyroid nodules 2006).

Dalším krokem v léčbě dyshormonogenetických strum je chirurgická intervence, jejíž indikace, typ a načasování doposud nebylo sjednoceno a je i nadále předmětem diskuzí. Problémem je zejména rozhodnutí mezi metodou totální idektomie, která je spojena s vyšším rizikem komplikací, jako například nechtěné odstranění příštítných tělísek či poranění n. laryngeus recurrens a jinými, méně radikálními zákroky. Méně radikální zákroky (subtotální idektomie, nodulektomie) zas vedou k tomu, že ponechaná tkáň je i nadále vystavena stimulačním vlivům tyreotropinu a struma opět progreduje, což je spojeno s rizikem nutnosti reoperace a neřeší riziko maligní transformace. Proto se většina autorů u pacientů s dyshormonogenetickou strumou přiklání k totální tyreoidektomii a označuje ji za metodu z největším dlouhodobým přínosem pro pacienta (Ozbas et al. 2005, Gough et al. 2000). Nelze však opominout, že terapeutický přístup by měl být individuální a při volbě optimálního postupu by měl být brán ohled na potřeby a rizika jednotlivého pacienta.

Závěr

Genetická podstata kongenitální hypotyreózy, jednoho z nejčastějších vrozených endokrinních onemocnění, je v posledních desetiletích předmětem živého zájmu mnoha výzkumných skupin po celém světě. Odhalení této podstaty u některých pacientů objasňuje patogenezi onemocnění na molekulární úrovni, nalezení mutací v kandidátních genech přispívá k lepšímu pochopení mechanismů, které se podílejí na vývoji a funkci štítné žlázy. Znalost celé škály fenotypických projevů genových defektů objasňuje mechanismus vzniku sdružených vývojových vad a pomáhá při jejich predikci, při volbě dalších vyšetření, dispenzarizaci a léčebné strategii. Pro pacienta samotného a jeho rodinu je důležité zejména genetické poradenství a z genetické diagnózy vyplývající eventuální prenatální diagnostika, v budoucnosti možná i prenatální léčba. Budoucnost ukáže, zda bude možné využít získané poznatky i ve vývoji nových terapeutických prostředků a strategií.

Pendrin je jeden z klíčových proteinů v patogenezi vrozené nedostatečnosti štítné žlázy. Mutace v genu pro pendrin mohou být jednou z méně častých příčin kongenitální hypotyreózy na podkladě dyshormonogeneze a mohou vést ke klinickému obrazu Pendredova syndromu. Postižení štítné žlázy se však z doposud ne zcela objasněných mechanismů vyznačuje vysokou inter- a intrafamiliární fenotypickou variabilitou z hlediska věku manifestace, závažnosti i dlouhodobého vývoje. Manifestace postižení štítné žlázy v novorozeneckém věku je ojedinělá, může však vést k časnému rozpoznání poruchy sluchu a k zahájení adekvátní terapie, což pozitivně ovlivní mentální vývoj dítěte. Vzhledem k jiným možným příčinám postižení

sluchu u hypotyreózy často nacházíme fenokopie Pendredova syndromu. Fenokopie lze v některých případech rozlišit na základě podrobné fenotypizace pacienta, jindy je však ke stanovení správné diagnózy nutné molekulárně-genetické vyšetření. Gen pro pendrin by proto měl být vyšetřen u každého pacienta s kongenitální hypotyreózou na podkladě dys hormonogeneze a percepční poruchou sluchu, asociovanou s typickými strukturálními malformacemi vnitřního ucha. Stanovení této diagnózy by pak mělo vést k endokrinologické dispenzarizaci s cílem pečlivého sledování funkčních parametrů štítné žlázy a zejména jejího pravidelného zobrazovacího vyšetření. Selže-li konzervativní terapie, doporučuje většina autorů totální tyreoidektomii jako výkon s nejlepším dlouhodobým přínosem pro pacienta, který v případě nodózní dys hormonogenetické strumy předejde opakovaným reoperacím a zejména vzniku folikulárního karcinomu štítné žlázy. Předkládaná studie dále potvrzuje velkou heterogenitu mutací v genu pro pendrin, seznam mutací obohacuje o dvě nové – c.3G>C a p.Val422Asp a prokazuje nejčastější mutace kavkazské populace i v české populaci. Korelace mezi genotypem a fenotypem postižení štítné žlázy je velmi obtížná vzhledem ke skutečnosti, že jeden genotyp může způsobovat více fenotypů.

Literatura

- AACE/AME - American Association of Clinical Endocrinologists and Associazione Medici Endocrinologi medical guidelines for clinical practice for the diagnosis and management of thyroid nodules. *Endocr Pract* 2006; 12(1):63-102.
- Abramowicz MJ, Targovnik HM, Varela V, Cochaux P, Krawiec L, Pisarev MA, Propato FV, Juvenal G, Chester HA, and Vassart G. Identification of a mutation in the coding sequence of the human thyroid peroxidase gene causing congenital goiter. *J Clin Invest* 1992; 90(4):1200-1204.
- Abs R, Verhelst J, Schoofs E, and De Somer E. Hyperfunctioning metastatic follicular thyroid carcinoma in Pendred's syndrome. *Cancer* 1991; 67(8):2191-2193.
- Al Taji E, Biebermann H, Limanova Z, Hnikova O, Zikmund J, Dame C, Gruters A, Lebl J, and Krude H. Screening for mutations in transcription factors in a Czech cohort of 170 patients with congenital and early-onset hypothyroidism: identification of a novel PAX8 mutation in dominantly inherited early-onset non-autoimmune hypothyroidism. *Eur J Endocrinol* 2007; 156(5):521-529.
- Antonarakis SE. Recommendations for a nomenclature system for human gene mutations. Nomenclature Working Group. *Hum Mutat* 1998; 11(1):1-3.
- Aschendorff A, Marangos N, and Laszig R. Large vestibular aqueduct syndrome and its implication for cochlear implant surgery. *Am J Otol* 1997; 18(6 Suppl):57.
- Astl J, Veselý D, and Jablonický P. Pendredův syndrom - poznámky k problematice vrozené autosomálně recesivní percepční nedoslýchavosti spojené se strumou. *Otorinolaryng a Foniatrie* 2004; 53(2):55-59.

- Azaiez H, Yang T, Prasad S, Sorensen JL, Nishimura CJ, Kimberling WJ, and Smith RJ. Genotype-phenotype correlations for SLC26A4-related deafness. *Hum Genet* 2007; 122(5):451-457.
- Baldwin CT, Weiss S, Farrer LA, De Stefano AL, Adair R, Franklyn B, Kidd KK, Korostishevsky M, and Bonne-Tamir B. Linkage of congenital, recessive deafness (DFNB4) to chromosome 7q31 and evidence for genetic heterogeneity in the Middle Eastern Druze population. *Hum Mol Genet* 1995; 4(9):1637-1642.
- Banghova K, Al Taji E, Cinek O, Novotna D, Pourova R, Zapletalova J, Hnikova O, and Lebl J. Pendred syndrome among patients with congenital hypothyroidism detected by neonatal screening: identification of two novel PDS/SLC26A4 mutations. *Eur J Pediatr* 2008; 167(7):777-783.
- Banghová K, Al Taji E, and Lebl J. Pendrin a jeho úloha v patogenezi kongenitální hypotyreózy a dalších onemocnění. *DMEV* 2006; 9(2):80-84.
- Banghova K, Cinek O, Al Taji E, Zapletalova J, Vidura R, and Lebl J. Thyroidectomy in a patient with dysmorphogenetic goitre - a case of Pendred syndrome confirmed by finding mutations in the *PDS/SLC26A4* gene. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2008; *In Press*
- Bargman GJ, and Gardner LI. Otic lesions and congenital hypothyroidism in the developing chick. *J Clin Invest* 1967; 46(11):1828-1839.
- Batsakis JG, and Nishiyama RH. Deafness with sporadic goiter. Pendred's syndrome. *Arch Otolaryngol* 1962; 76:401-406.
- Bidart JM, Lacroix L, Evain-Brion D, Caillou B, Lazar V, Frydman R, Bellet D, Filetti S, and Schlumberger M. Expression of Na⁺/I⁻ symporter and Pendred

- syndrome genes in trophoblast cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(11):4367-4372.
- Bidart JM, Mian C, Lazar V, Russo D, Filetti S, Caillou B, and Schlumberger M. Expression of pendrin and the Pendred syndrome (PDS) gene in human thyroid tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(5):2028-2033.
 - Blons H, Feldmann D, Duval V, Messaz O, Denoyelle F, Loundon N, Sergout-Allaoui A, Houang M, Duriez F, Lacombe D, *et al.* Screening of SLC26A4 (PDS) gene in Pendred's syndrome: a large spectrum of mutations in France and phenotypic heterogeneity. *Clin Genet* 2004; 66(4):333-340.
 - Borck G, Roth C, Martine U, Wildhardt G, and Pohlenz J. Mutations in the PDS gene in German families with Pendred's syndrome: V138F is a founder mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(6):2916-2921.
 - Camargo R, Limbert E, Gillam M, Henriques MM, Fernandes C, Catarino AL, Soares J, Alves VA, Kopp P, and Medeiros-Neto G. Aggressive metastatic follicular thyroid carcinoma with anaplastic transformation arising from a long-standing goiter in a patient with Pendred's syndrome. *Thyroid* 2001; 11(10):981-988.
 - Campbell C, Cucci RA, Prasad S, Green GE, Edeal JB, Galer CE, Karniski LP, Sheffield VC, and Smith RJ. Pendred syndrome, DFNB4, and PDS/SLC26A4 identification of eight novel mutations and possible genotype-phenotype correlations. *Hum Mutat* 2001; 17(5):403-411.
 - Coakley JC, Keir EH, and Connelly JF. The association of thyroid dysmorphogenesis and deafness (Pendred syndrome): experience of the

- Victorian Neonatal Thyroid Screening Programme. *J Paediatr Child Health* 1992; 28(5):398-401.
- Coyle B, Coffey R, Armour JA, Gausden E, Hochberg Z, Grossman A, Britton K, Pembrey M, Reardon W, and Trembath R. Pendred syndrome (goitre and sensorineural hearing loss) maps to chromosome 7 in the region containing the nonsyndromic deafness gene DFNB4. *Nat Genet* 1996; 12(4):421-423.
 - Coyle B, Reardon W, Herbrick JA, Tsui LC, Gausden E, Lee J, Coffey R, Grueters A, Grossman A, Phelps PD, Luxon L, Kendall-Taylor P, Scherer SW, and Trembath RC. Molecular analysis of the PDS gene in Pendred syndrome. *Hum Mol Genet* 1998; 7(7):1105-1112.
 - Dawson PA, and Markovich D. Pathogenetics of the human SLC26 transporters. *Curr Med Chem* 2005; 12(4):385-396.
 - Debruyne F, Vanderschueren-Lodeweyckx M, and Bastijns P. Hearing in congenital hypothyroidism. *Audiology* 1983; 22(4):404-409.
 - DeLong GR, Stanbury JB, and Fierro-Benitez R. Neurological signs in congenital iodine-deficiency disorder (endemic cretinism). *Dev Med Child Neurol* 1985; 27(3):317-324.
 - Dentice M, Luongo C, Elefante A, Ambrosio R, Salzano S, Zannini M, Nitsch R, Di Lauro R, Rossi G, Fenzi G, and Salvatore D. Pendrin is a novel in vivo downstream target gene of the TTF-1/Nkx-2.1 homeodomain transcription factor in differentiated thyroid cells. *Mol Cell Biol* 2005; 25(22):10171-10182.
 - Deshpande AH, and Bobhate SK. Cytological features of dysmorphogenetic goiter: case report and review of the literature. *Diagn Cytopathol* 2005; 33(4):252-254.

- Devos H, Rodd C, Gagne N, Laframboise R, and Van Vliet G. A search for the possible molecular mechanisms of thyroid dysgenesis: sex ratios and associated malformations. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84(7):2502-2506.
- Djemli A, Van Vliet G, and Delvin EE. Congenital hypothyroidism: from paracelsus to molecular diagnosis. *Clin Biochem* 2006; 39(5):511-518.
- Dou H, Xu J, Wang Z, Smith AN, Soleimani M, Karet FE, Greinwald JH, Jr., and Choo D. Co-expression of pendrin, vacuolar H⁺-ATPase alpha4-subunit and carbonic anhydrase II in epithelial cells of the murine endolymphatic sac. *J Histochem Cytochem* 2004; 52(10):1377-1384.
- ESPE - Revised guidelines for neonatal screening programmes for primary congenital hypothyroidism. Working Group on Neonatal Screening of the European Society for Paediatric Endocrinology. *Horm Res* 1999; 52(1):49-52.
- Everett LA, Belyantseva IA, Noben-Trauth K, Cantos R, Chen A, Thakkar SI, Hoogstraten-Miller SL, Kachar B, Wu DK, and Green ED. Targeted disruption of mouse Pds provides insight about the inner-ear defects encountered in Pendred syndrome. *Hum Mol Genet* 2001; 10(2):153-161.
- Everett LA, Glaser B, Beck JC, Idol JR, Buchs A, Heyman M, Adawi F, Hazani E, Nassir E, Baxevanis AD, Sheffield VC, and Green ED. Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (PDS). *Nat Genet* 1997; 17(4):411-422.
- Everett LA, Morsli H, Wu DK, and Green ED. Expression pattern of the mouse ortholog of the Pendred's syndrome gene (Pds) suggests a key role for pendrin in the inner ear. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96(17):9727-9732.

- Fraser GR. Association of Congenital Deafness with Goitre (Pendred's Syndrome) a Study of 207 Families. *Ann Hum Genet* 1965; 28:201-249.
- Frische S, Kwon TH, Frokiaer J, Madsen KM, and Nielsen S. Regulated expression of pendrin in rat kidney in response to chronic NH₄Cl or NaHCO₃ loading. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 284(3):584-593.
- Fugazzola L, Cirello V, Dossena S, Rodighiero S, Muzza M, Castorina P, Lalatta F, Ambrosetti U, Beck-Peccoz P, Botta G, and Paulmichl M. High phenotypic intrafamilial variability in patients with Pendred syndrome and a novel duplication in the SLC26A4 gene: clinical characterization and functional studies of the mutated SLC26A4 protein. *Eur J Endocrinol* 2007; 157(3):331-338.
- Fugazzola L, Mannavola D, Cerutti N, Maghnie M, Pagella F, Bianchi P, Weber G, Persani L, and Beck-Peccoz P. Molecular analysis of the Pendred's syndrome gene and magnetic resonance imaging studies of the inner ear are essential for the diagnosis of true Pendred's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(7):2469-2475.
- Gaudino R, Garel C, Czernichow P, and Leger J. Proportion of various types of thyroid disorders among newborns with congenital hypothyroidism and normally located gland: a regional cohort study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005; 62(4):444-448.
- Gillam MP, and Kopp P. Genetic defects in thyroid hormone synthesis. *Curr Opin Pediatr* 2001; 13(4):364-372.
- Gough IR, and Wilkinson D. Total thyroidectomy for management of thyroid disease. *World J Surg* 2000; 24(8):962-965.
- Gruters A, Biebermann H, and Krude H. Neonatal thyroid disorders. *Horm Res* 2003; 59 Suppl 1:24-29.

- Kopp P, Arseven OK, Sabacan L, Kotlar T, Dupuis J, Cavaliere H, Santos CL, Jameson JL, and Medeiros-Neto G. Phenocopies for deafness and goiter development in a large inbred Brazilian kindred with Pendred's syndrome associated with a novel mutation in the PDS gene. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84(1):336-341.
- Kraiem Z, Heinrich R, Sadeh O, Shiloni E, Nassir E, Hazani E, and Glaser B. Sulfate transport is not impaired in pendred syndrome thyrocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84(7):2574-2576.
- La Franchi S. Congenital hypothyroidism: etiologies, diagnosis, and management. *Thyroid* 1999; 9:65-69.
- Lacroix L, Mian C, Caillou B, Talbot M, Filetti S, Schlumberger M, and Bidart JM. Na⁽⁺⁾/I⁽⁻⁾ symporter and Pendred syndrome gene and protein expressions in human extra-thyroidal tissues. *Eur J Endocrinol* 2001; 144(3):297-302.
- Laštůvka P, Taudy M, and Vrabec P. Pendredův syndrom u dospívající dívky. *Otorinolaryngol* 2001; 50(2):92-94.
- Li XC, Everett LA, Lalwani AK, Desmukh D, Friedman TB, Green ED, and Wilcox ER. A mutation in PDS causes non-syndromic recessive deafness. *Nat Genet* 1998; 18(3):215-217.
- Maciaszczyk K, and Lewinski A. Phenotypes of SLC26A4 gene mutations: Pendred syndrome and hypoacusis with enlarged vestibular aqueduct. *Neuro Endocrinol Lett* 2008; 29(1):29-36.
- Manglabruks A, Billerbeck AE, Wajchenberg B, Knobel M, Cox NJ, DeGroot LJ, and Medeiros-Neto G. Genetic linkage studies of thyroid peroxidase (TPO) gene in families with TPO deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 72(2):471-476.

- Masmoudi S, Charfedine I, Hmani M, Grati M, Ghorbel AM, Elgaied-Boulila A, Drira M, Hardelin JP, and Ayadi H. Pendred syndrome: phenotypic variability in two families carrying the same PDS missense mutation. *Am J Med Genet* 2000; 90(1):38-44.
- Medeiros-Neto G, Gil-Da-Costa MJ, Santos CL, Medina AM, Silva JC, Tsou RM, and Sobrinho-Simoes M. Metastatic thyroid carcinoma arising from congenital goiter due to mutation in the thyroperoxidase gene. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83(11):4162-4166.
- Medeiros-Neto G, and Stanbury JB. In: Medeiros-Neto G, Stanbury JB (eds) *Inherited Disorders of the Thyroid system*. CRC press, Boca Raton 1994; 909-916.
- Meyerhoff WL. Hypothyroidism and the ear: electrophysiological, morphological, and chemical considerations. *Laryngoscope* 1979; 89(10 Pt 2 Suppl 19):1-25.
- Mondini C. *Opuscula Caroli Mundini: Anatomica Surdi Nati Sectio. De Bononiensi Scientarium et Artium Instituto atque Academia Commentarii Bononiae* 1791; 7(419-431).
- Napiontek U, Borck G, Muller-Forell W, Pfarr N, Bohnert A, Keilmann A, and Pohlenz J. Intrafamilial variability of the deafness and goiter phenotype in Pendred syndrome caused by a T416P mutation in the SLC26A4 gene. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(11):5347-5351.
- Oppenheimer JH, and Schwartz HL. Molecular basis of thyroid hormone-dependent brain development. *Endocr Rev* 1997; 18(4):462-475.

- Ozbas S, Kocak S, Aydintug S, Cakmak A, Demirkiran MA, and Wishart GC. Comparison of the complications of subtotal, near total and total thyroidectomy in the surgical management of multinodular goitre. *Endocr J* 2005; 52(2):199-205.
- Park SM, and Chatterjee VK. Genetics of congenital hypothyroidism. *J Med Genet* 2005; 42(5):379-389.
- Pelizzo MR, Bernante P, Toniato A, and Fassina A. Frequency of thyroid carcinoma in a recent series of 539 consecutive thyroidectomies for multinodular goiter. *Tumori* 1997; 83(3):653-655.
- Pendred V. Deaf-mutism and goitre. *The Lancet* 1896; II:532.
- Phelps PD, Coffey RA, Trembath RC, Luxon LM, Grossman AB, Britton KE, Kendall-Taylor P, Graham JM, Cadge BC, Stephens SG, Pembrey ME, and Reardon W. Radiological malformations of the ear in Pendred syndrome. *Clin Radiol* 1998; 53(4):268-273.
- Pryor SP, Madeo AC, Reynolds JC, Sarlis NJ, Arnos KS, Nance WE, Yang Y, Zalewski CK, Brewer CC, Butman JA, and Griffith AJ. SLC26A4/PDS genotype-phenotype correlation in hearing loss with enlargement of the vestibular aqueduct (EVA): evidence that Pendred syndrome and non-syndromic EVA are distinct clinical and genetic entities. *J Med Genet* 2005; 42(2):159-165.
- Quentin F, Chambrey R, Trinh-Trang-Tan MM, Fysekidis M, Cambillau M, Paillard M, Aronson PS, and Eladari D. The Cl⁻/HCO₃⁻ exchanger pendrin in the rat kidney is regulated in response to chronic alterations in chloride balance. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 287(6):1179-1188.
- Reardon W. Genetic deafness. *J Med Genet* 1992; 29(8):521-526.

- Reardon W, CF OM, Trembath R, Jan H, and Phelps PD. Enlarged vestibular aqueduct: a radiological marker of pendred syndrome, and mutation of the PDS gene. *Quart J Med* 2000; 93(2):99-104.
- Reardon W, Coffey R, Chowdhury T, Grossman A, Jan H, Britton K, Kendall-Taylor P, and Trembath R. Prevalence, age of onset, and natural history of thyroid disease in Pendred syndrome. *J Med Genet* 1999; 36(8):595-598.
- Reardon W, Coffey R, Phelps PD, Luxon LM, Stephens D, Kendall-Taylor P, Britton KE, Grossman A, and Trembath R. Pendred syndrome--100 years of underascertainment? *Quart J Med* 1997; 90(7):443-447.
- Reardon W, and Trembath RC. Pendred syndrome. *J Med Genet* 1996; 33(12):1037-1040.
- Rillema JA, and Hill MA. Prolactin regulation of the pendrin-iodide transporter in the mammary gland. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 284(1):25-28.
- Roberts HE, Moore CA, Fernhoff PM, Brown AL, and Khoury MJ. Population study of congenital hypothyroidism and associated birth defects, Atlanta, 1979-1992. *Am J Med Genet* 1997; 71(1):29-32.
- Rodriguez AM, Perron B, Lacroix L, Caillou B, Leblanc G, Schlumberger M, Bidart JM, and Pourcher T. Identification and characterization of a putative human iodide transporter located at the apical membrane of thyrocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(7):3500-3503.
- Rotman-Pikielny P, Hirschberg K, Maruvada P, Suzuki K, Royaux IE, Green ED, Kohn LD, Lippincott-Schwartz J, and Yen PM. Retention of pendrin in the endoplasmic reticulum is a major mechanism for Pendred syndrome. *Hum Mol Genet* 2002; 11(21):2625-2633.

- Royaux IE, Belyantseva IA, Wu T, Kachar B, Everett LA, Marcus DC, and Green ED. Localization and functional studies of pendrin in the mouse inner ear provide insight about the etiology of deafness in pendred syndrome. *J Assoc Res Otolaryngol* 2003; 4(3):394-404.
- Royaux IE, Suzuki K, Mori A, Kato R, Everett LA, Kohn LD, and Green ED. Pendrin, the protein encoded by the Pendred syndrome gene (PDS), is an apical porter of iodide in the thyroid and is regulated by thyroglobulin in FRTL-5 cells. *Endocrinology* 2000; 141(2):839-845.
- Royaux IE, Wall SM, Karniski LP, Everett LA, Suzuki K, Knepper MA, and Green ED. Pendrin, encoded by the Pendred syndrome gene, resides in the apical region of renal intercalated cells and mediates bicarbonate secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98(7):4221-4226.
- Scott DA, Wang R, Kreman TM, Andrews M, McDonald JM, Bishop JR, Smith RJ, Karniski LP, and Sheffield VC. Functional differences of the PDS gene product are associated with phenotypic variation in patients with Pendred syndrome and non-syndromic hearing loss (DFNB4). *Hum Mol Genet* 2000; 9(11):1709-1715.
- Scott DA, Wang R, Kreman TM, Sheffield VC, and Karniski LP. The Pendred syndrome gene encodes a chloride-iodide transport protein. *Nat Genet* 1999; 21(4):440-443.
- Seeman P, Malikova M, Raskova D, Bendova O, Groh D, Kubalkova M, Sakmaryova I, Seemanova E, and Kabelka Z. Spectrum and frequencies of mutations in the GJB2 (Cx26) gene among 156 Czech patients with pre-lingual deafness. *Clin Genet* 2004; 66(2):152-157.

- Sheffield VC, Kraiem Z, Beck JC, Nishimura D, Stone EM, Salameh M, Sadeh O, and Glaser B. Pendred syndrome maps to chromosome 7q21-34 and is caused by an intrinsic defect in thyroid iodine organification. *Nat Genet* 1996; 12(4):424-426.
- Siebner R, Merlob P, Kaiserman I, and Sack J. Congenital anomalies concomitant with persistent primary congenital hypothyroidism. *Am J Med Genet* 1992; 44(1):57-60.
- Soleimani M, Greeley T, Petrovic S, Wang Z, Amlal H, Kopp P, and Burnham CE. Pendrin: an apical Cl⁻/OH⁻/HCO₃⁻ exchanger in the kidney cortex. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; 280(2):356-364.
- Stanbury JB. The pathogenesis of endemic cretinism. *J Endocrinol Invest* 1984; 7(4):409-419.
- Steel KP, and Bussoli TJ. Deafness genes: expressions of surprise. *Trends Genet* 1999; 15(6):207-211.
- Taylor JP, Metcalfe RA, Watson PF, Weetman AP, and Trembath RC. Mutations of the PDS gene, encoding pendrin, are associated with protein mislocalization and loss of iodide efflux: implications for thyroid dysfunction in Pendred syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(4):1778-1784.
- Tollin SR, Mery GM, Jelveh N, Fallon EF, Mikhail M, Blumenfeld W, and Perlmutter S. The use of fine-needle aspiration biopsy under ultrasound guidance to assess the risk of malignancy in patients with a multinodular goiter. *Thyroid* 2000; 10(3):235-241.
- Tsukamoto K, Suzuki H, Harada D, Namba A, Abe S, and Usami S. Distribution and frequencies of PDS (SLC26A4) mutations in Pendred syndrome and

- nonsyndromic hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct: a unique spectrum of mutations in Japanese. *Eur J Hum Genet* 2003; 11(12):916-922.
- Uziel A, Gabrion J, Ohresser M, and Legrand C. Effects of hypothyroidism on the structural development of the organ of Corti in the rat. *Acta Otolaryngol* 1981; 92(5-6):469-480.
 - Valvassori GE. The large vestibular aqueduct and associated anomalies of the inner ear. *Otolaryngol Clin North Am* 1983; 16(1):95-101.
 - Věstník MZČR. Metodický návod zajištění celoplošného novorozeneckého laboratorního screeningu a následné péče, oddíl 2 - kongenitální hypotyreóza. 2002; 9:4-11.
 - Vittal S, Chandrasekaran M, Kumar KB, Sucharitha V, and Jeevaratinam R. Dysmorphogenetic goitre. *J R Coll Surg Edinb* 1993; 38(4):205-207.
 - Watanabe I. Dysmorphogenesis--with special reference to its relationship with thyroid adenoma. *Hormon To Rinsho* 1983; 31(7):627-636.
 - Yoshida A, Hisatome I, Taniguchi S, Sasaki N, Yamamoto Y, Miake J, Fukui H, Shimizu H, Okamura T, Okura T, Igawa O, Shigemasa C, Green ED, Kohn LD, and Suzuki K. Mechanism of iodide/chloride exchange by pendrin. *Endocrinology* 2004; 145(9):4301-4308.
 - Zamrazil V. Současný stav zásobení jodem a jeho důsledky v České Republice. *ČasLékČes* 1998; 137(611-618).

Seznam publikací doktoranda

1. Publikace *in extenso*, které jsou podkladem disertace

- s faktorem impaktu

Banghova K, Al Taji E, Cinek O, Novotna D, Pourova R, Zapletalova J, Hnikova O, Lebl J. **Pendred syndrome among patients with congenital hypothyroidism detected by neonatal screening: identification of two novel *PDS/SLC26A4* mutations.** Eur J Pediatr 2008; 167(7):777-83. (IF₂₀₀₈ 1,277)

Banghova K, Cinek O, Al Taji E, Zapletalova J, Vidura R, Lebl J. **Thyroidectomy in a patient with multinodular dys hormonogenetic goitre - a case of Pendred syndrome confirmed by finding mutations in the *PDS/SLC26A4* gene.** J Pediatr Endocrin Metab 2008; *In Press*. (IF₂₀₀₈ 0,858)

- bez faktoru impaktu

Banghová K, Al Taji E, Lebl J. **Pendrin a jeho úloha v patogenezi kongenitální hypotyreózy a dalších onemocnění.** DMEV 2006; 9(2):12-17.

Banghová K, Al Taji E, Novotná D, Zapletalová J, Hníková O, Čáp J, Klabočová J, Kúseková M, Lebl J. **Pendredův syndrom u pacientů s hypotyreózou: Genetická**

diagnostika, fenotypová variabilita a výskyt fenokopii. Čas. Lék. Čes. 2008. *In Press.*

2. Publikace *in extenso* bez vztahu k tématu disertace

- s faktorem impaktu

Obermannova B, Banghova K, Sumnik Z, Dvorakova HM, Betka J, Fencel F, Kolouskova S, Cinek O, Lebl J. **Unusually severe phenotype of neonatal primary hyperparathyroidism due to a heterozygous inactivating mutation in the CASR gene.** Eur J Pediatr 2008; Aug 27. [Epub ahead of print] (IF₂₀₀₈ 1,277)

3. Přednášky, postery, abstrakta

- zahraniční

Banghová K, Al Taji E, Cinek O, Novotná D, Zapletalová J, Hníková O, Lebl J. **Pendred syndrome among patients with congenital hypothyroidism detected by neonatal screening: identification of two novel *PDS/SLC26A4* mutations.** Poster + abstrakt v Horm Res 2007; 68(suppl 1):105. 46th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Endocrinology (ESPE) 2007, Helsinki, Finland.

Banghová K, Al Taji E, Cinek O, Novotná D, Zapletalová J, Hníková O, Čáp J, Klabochová J, Kúšková M, Lebl J. **Pendred syndrome among patients with**

congenital or postnatal non-autoimmune hypothyroidism. Přednáška + abstrakt v Endocr. Regul 2007; Nov;41(4):165-74. 14th Annual Meeting of the Middle European Society for Paediatric Endocrinology (MESPE) 2007, Bratislava, Slovensko.

Banghová K, Al Taji E, Cinek O, Novotná D, Pourová R, Zapletalová J, Hníková O and Lebl J. **Pendred syndrome among patients with congenital hypothyroidism detected by neonatal screening.** Přednáška + abstrakt ve sborníku. The 16th Meeting of Paediatric Research of Central European Countries 2007, Innsbruck, Austria.

Banghová K, Al Taji E, Novotná D, Zapletalová J, Hníková O, Cinek O, Lebl J. **Pendred syndrome: sensorineural hearing loss and goitre.** Přednáška + abstrakt v Slovenska pediatrija 2006; 13:152. 13th Annual Meeting of Middle European Society for Paediatric Endocrinology (MESPE) 2006, Portorož, Slovenia.

Al Taji E, Krude H. Banghová K, Zikmund J, Hníková O, Lebl J. **Associated congenital malformations in children with congenital hypothyroidism: implications for clinical practice and research.** Přednáška + abstrakt v Slovenska pediatrija 2006; 13:148. 13th Annual Meeting of Middle European Society for Paediatric Endocrinology (MESPE) 2006, Portorož, Slovenia.

- **domácí**

Banghová K, Al Taji E, Cinek O, Zapletalová J, Lebl J. Kazuistika: **Proč Dáša huře slyšela a musela podstoupit idektomii**. Přednáška + abstrakt v Česko-slovenská pediatrie 2007; 7-8:469-470. Dny dětské endokrinologie 2007, Ostrava, ČR.

Banghová K. **Genetické příčiny dyshormonogeneze štítné žlázy**. Přednáška + abstrakt ve sborníku. XXX. Endokrinologické dny s mezinárodní účastí 2007, Špindlerův Mlýn, ČR.

Banghová K, Al Taji E, Cinek O, Novotná D, Pourová R, Zapletalová J, Hníková O, Lebl J. **Pendredův syndrom u pacientů s kongenitální hypotyreózou diagnostikovanou novorozeneckým screeningem: identifikace dvou nových mutací v *PDS/SLC26A4* genu**. Přednáška + abstrakt ve sborníku. XXX. Endokrinologické dny s mezinárodní účastí 2007, Špindlerův Mlýn, ČR.

Banghová K, Al Taji E, Novotná D, Zapletalová J, Hníková O, Lebl J. **Pendrin v patogenezi kongenitální hypothyreózy: molekulárně-genetická diagnostika Pendredova syndromu**. Přednáška + abstrakt ve sborníku. Dny dětské endokrinologie 2006, Chodová Planá, ČR.

Banghová K, Al Taji E, Novotná D, Zapletalová J, Hníková O, Lebl J. **Pendredův syndrom v diferenciální diagnostice poruch sluchu u vrozené hypotyreózy**. Poster + abstrakt v Česko-slovenská pediatrie 2006; 5: 248. 7. český pediatrický kongres s mezinárodní účastí 2006, Praha, ČR.

Al Taji E, Banghová K, Zikmund J, Hníková O, Lebl J. **Vrozené vývojové vady u dětí s kongenitální hypotyreózou: důsledky pro výzkum a klinickou praxi.** Přednáška + abstrakt v Česko-slovenská pediatrie 2006; 5: 246. 7. český pediatrický kongres s mezinárodní účastí 2006, Praha, ČR.